

***Individuelle Dosierung von Acetylsalicylsäure
durch Kontrolle der Thrombozytenaggregation
bei Patienten mit cerebro- und kardiovaskulärem
Risiko***

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Jochen Ludwig

geboren am 10.07.1971 in Paderborn

Gutachter

1. PD Dr. Marion Hippus,
Klinische Pharmakologie, Universitätsklinikum Jena
2. Dr. med. habil. Günter Syrbe,
Innere Abteilung Stadtroda
3. PD Dr. Wolfgang Lösche,
Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie, Universitätsklinikum Jena

Tag der öffentlichen Verteidigung: 2.11.2010

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
1. Einleitung	6
1.1. Atherosklerose	6
1.2. Thrombozyten	7
1.2.1. Thrombozytenaktivierung und Aggregation	8
1.2.2. Antiaggregatorische Mechanismen	10
1.2.3. Thrombozytenaggregationsmessung	10
1.3. Acetylsalicylsäure	12
1.3.1. Geschichte	12
1.3.2. Pharmakokinetik	13
1.3.3. Grundlagen der antithrombotischen Wirkung von ASS	13
1.3.4. Weitere Thrombozytenaggregationshemmer	14
1.3.5. Epidemiologische Studien über die Wirksamkeit von ASS	15
2. Aufgabenstellung	23
3. Material und Methoden	24
3.1. Patienten	24
3.2. Blutentnahme	24
3.3. Material und Reagenzien	25
3.4. Thrombozytenaggregometrie	26
3.5. ASS-Dosisfindung für maximale Hemmung der Aggregation	26
3.6. Statistik	27

4. Ergebnisse	28
4.1. Thrombozytenaggregation bei Patienten mit einer Indikation für ASS vor Beginn der Medikamenteneinnahme	28
4.2. Arachidonsäure-induzierte Thrombozytenaggregation bei Patienten mit unterschiedlichen ASS-Dosierungen	29
4.2.1. Hemmung der Arachidonsäure-induzierten Thrombozytenaggregation bei unterschiedlichen ASS-Dosierungen – Einteilung der Patienten in 3 Gruppen	29
4.2.2. Zeitlicher Verlauf und „slope“ der AA-induzierten Aggregation nach Einteilung in die ASS-Dosisgruppen	31
4.2.3. Labor- und epidemiologische Parameter in den ASS-Dosisgruppen	32
4.3. Thrombozytenaggregation mit anderen Induktoren	34
4.4. Thrombozytenaggregation und andere Parameter bei Diabetikern und Nichtdiabetikern	38
4.4.1. AA-induzierten Thrombozytenaggregation	38
4.4.2. Thrombozytenzahlen, Gewicht und BMI sowie Plasmalipide	41
4.4.3. Thrombozytenaggregation mit anderen Induktoren bei Diabetikern und Nicht-Diabetikern	43
4.5. Möglicher Medikamenten- und Nikotineinfluß auf die Thrombozytenaggregation	45
4.6. Verlaufskontrolle von Patienten mit einer ASS-Medikation und erneute Durchführung einer Thrombozytenaggregation	47
5. Diskussion	54
6. Literatur	66

Abkürzungsverzeichnis

AA	Arachidonsäure
ADP	Adenosindiphosphat
APSAC	Anisoylderivat des Plasminogen–Streptokinase–Aktivator–Komplexes
ASS	Acetylsalicylsäure
BMI	Body–mass–index
COX 1	Cyclooxygenase 1
COX 2	Cyclooxygenase 2
EDRF	endothelium derived relaxing factor
GI	gastrointestinal
GP Ia/Ia	Glykoprotein Ia/Ia (=Integrin $\alpha_2\beta_1$)
GP IIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa (=Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$)
HDL	high density lipoprotein/ Lipoprotein hoher Dichte
LDL	low density lipoprotein/ Lipoprotein geringer Dichte
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDGF	platelet derived growth factor
PGG 2	Prostaglandin G2
PGH 2	Prostaglandin H2
PGI 2	Prostacyclin
PPP	platelet poor plasma
PRIND	prolongiertes ischämisches neurologisches Defizit
PRP	platelet rich plasma
rtPA	recombinant tissue plasminogen activator
TIA	transitorisch ischämische Attacke
TxA 2	Thromboxan A 2
vW Faktor	von Willebrand Faktor

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, mittels des in vitro Thrombozytenaggregationstestes nach Born eine individuelle, nahezu vollkommene Aggregationshemmung durch ASS zu ermitteln. Dabei sollten folgende Fragen beantwortet werden:

Welche Induktoren der Thrombozytenaggregometrie nach Born eignen sich zur Ermittlung einer effektiven Aggregationshemmung? Wie verhält sich die Thrombozytenaggregation mit den jeweiligen Induktoren nach sukzessiver Dosissteigerung von ASS? Wie verhält sich die in vitro Thrombozytenaggregation bei einer gleichbleibenden Dauermedikation mit ASS? Lassen sich Einflüsse durch bestimmte Medikamente oder außerhalb der Norm liegende Laborwerte nachweisen?

In einer prospektiven Studie wurden 108 Patienten der Inneren Abteilung des Landesfachkrankenhauses Stadtroda, bei welchen eine Indikation zur Thrombozytenaggregationshemmung bestand, untersucht. Vor ASS-Einnahme fand eine standardisierte Thrombozytenaggregometrie nach Born mit den Induktoren Arachidonsäure (Endkonzentration 500mg/ml), Kollagen (0,19 mg/ml), Adrenalin (1×10^{-4} M) oder ADP (2×10^{-5} M) statt. Zusätzlich wurden verschiedene Laborparameter registriert. Nach dieser Ausgangsmessung wurde bei allen Patienten mit der niedrigsten ASS-Dosis von 30mg/d über 7 Tage begonnen. Danach erfolgte eine erneute Thrombozytenaggregationsmessung. Bei unzureichender Thrombozytenaggregationshemmung fand eine Dosissteigerung auf 100mg ASS/d für weitere 7 Tage statt, bei effektiver Aggregationshemmung wurde die Therapie beibehalten. Nach einem weiteren Therapieintervall und gegebenenfalls immer noch nicht ausreichend gehemmter Thrombozytenaggregometrie wurde die Dosis auf 300mg ASS/d gesteigert. Sollte nach einer weiteren Woche die Aggregometrie immer noch eine unzureichende Aggregationshemmung aufweisen, wurde die Dosis auf 500mg ASS/d erhöht.

43 Patienten (39,8%) zeigten bereits nach einwöchiger Gabe von 30mg ASS/d eine effektive Aggregationshemmung, 54 Patienten (50%) benötigten für eine weitere Woche eine Dosis von 100mg ASS/d, 10 Patienten (9,3%) benötigten 300mg ASS/d und nur ein Patient (0,9%) war erst unter 500mg ASS/d effektiv gehemmt. Es konnten keine sogenannten ASS–Non–Responder erfaßt werden, alle Patienten reagierten nach sukzessiver Dosissteigerung von ASS mit einer effektiven Thrombozytenaggregationshemmung.

Die in dieser Arbeit zusätzlich registrierten Laborwerte zeigten keine signifikante Differenz in den einzelnen Dosisgruppen. Außerdem scheint die zusätzliche Medikation von ACE–Hemmern, Betablockern, Ca–Antagonisten, Nitraten oder Heparin keinen Einfluß auf die Thrombozytenaggregometrie nach Born zu nehmen.

Es zeigte sich, daß nur die AA–induzierte Aggregometrie nach 10 minütiger Meßzeit auf unter 30% des Ausgangswertes abfiel und hiermit den definierten Zielwert erreichte. So ist die AA–induzierte Aggregometrie als sensibler Parameter zur individuellen, effektiven ASS–Dosierung anzusehen.

Bei Verwendung von Adrenalin, ADP oder Kollagen als Auslöser der Aggregation konnten keine eindeutigen Aussagen über eine ausreichende ASS–Wirkung erhalten werden.

Bei den in Nachuntersuchungen erfaßten Patienten (n=24) kam es trotz effektiver Thrombozytenaggregationshemmung bei 3 Patienten (12,5%) zu einem vaskulären Ereignis. Die Thrombozytenaggregation unter laufender ASS–Therapie zeigte keine Auffälligkeiten im Sinne einer Wirkungsabschwächung. Somit ist davon auszugehen, daß eine effektive Thrombozytenaggregationshemmung alleine nicht ausreicht, um ein okklusives Ereignis zu verhindern.

1. Einleitung

In wirtschaftlich entwickelten Ländern machen Erkrankungen aufgrund atherosklerotischer Gefäßveränderungen den größten Anteil aus. Hierzu zählen die ischämische Herzkrankheit, zerebrale Ischämien, periphere Durchblutungsstörungen und arterielle Hypertonie sowie deren Komplikationen Herzinfarkt und Apoplexie. In ihrer Gesamtheit haben o.g. Erkrankungen den höchsten Anteil an Morbidität und Mortalität (Till 1999, Patrono und Rocca 2008).

Für die Entstehung der Artherosklerose wirken bestimmte pathologische Blutwerte begünstigend. Hierzu zählen insbesondere Hyperfibrinogenämie und Hypercholesterinämie vor allem bei pathologisch verschobenen LDL/HDL-Quotienten zugunsten LDL. Desweiteren bewirken eine Insulinresistenz, Rauchen, erhöhte Blutdruckwerte und Adipositas ein höheres Artheroskleroserisiko (Goldschmidt et al. 2002). Hieraus ergibt sich eine große Anzahl von Möglichkeiten zur Prävention der Artherosklerose.

1.1. Atherosklerose

Bei der Atherosklerose kommt es zu einer chronischen degenerativen Gefäßwandveränderung, hauptsächlich die Arterien und Arteriolen betreffend. Pathophysiologisch kann dies auf einen primären Gefäßendothelschaden zurückgeführt werden. Ihm folgt die Ablagerung von cholesterolgefüllten Makrophagen (sog. Schaumzellen) in die subendothelial gelegene Intima, was sich als streifige Lipoidose zeigt. Weiterhin entsteht eine Intimaverdickung durch Einwanderung und Proliferation von glatten Muskelzellen sowie Vermehrung von Kollagen und elastischen Fasern. Bleiben die auslösenden Faktoren weiter bestehen, kommt es zur Bildung von atheromatösen Plaques (= fibröse Plaques), welche aus einer Ansammlung von extrazellulärem Cholesterol, Bindegewebsfasern, Glykoproteinen und glatten Muskelzellen bestehen. Im fortgeschrittenen Stadium werden unlösliche Kalziumsalze eingelagert und in den Plaques entstehen Nekrosen, die zum Aufbrechen und zur Fissurenbildung führen, an denen sich Thromben aus Thrombozyten und Fibrin bilden – eine mögliche

Ursache für Herzinfarkte, Insulte und andere thrombembolische Ereignisse (Till 1999, Goldschmidt et al. 2002).

Durch atherosklerotische Gefäßwandveränderungen treten funktionelle Störungen auf. Unter physiologischen Bedingungen bewirkten verschiedene Stimuli (Acetylcholin, Antithrombin III, Bradykinin, Histamin, Thrombin u.a.) eine Synthesesteigerung von endothelium derived relaxing factor (EDRF), welches normalerweise zu einer Gefäßrelaxation führt. Desweiteren käme es im gesunden Endothel zu einer PGI₂-Synthese, welche mit o.g. EDRF die wirksamsten physiologischen Hemmstoffe der Thrombozytenaktivierung sind. Außerdem führen oben aufgezählte Risikofaktoren zu einer Megakaryozytenveränderung, so daß daraus entstandene Thrombozyten in ihrer Aktivierbarkeit gesteigert sind, da der Thromboxan (TxA₂)/ Prostacyclin (PGI₂)-Quotient zugunsten TxA₂ verschoben ist. Der genaue Mechanismus für die gesteigerte Aktivierbarkeit ist noch unbekannt (Till 1999).

Somit sind die Thrombozyten ein wichtiger Faktor in der Pathogenese thrombembolischen Geschehens und deren Funktionshemmung dementsprechend ein wirkungsvoller Ansatzpunkt zur Prävention thrombembolischer Ereignisse, was auch in vielen klinischen Studien nachgewiesen wurde (Antiplatelet Trialists' Collaboration 1994, Juul-Möller et al. 1992, Manson et al. 1991).

Im folgenden Abschnitt soll die physiologische wie pathophysiologische Funktionsweise der Thrombozyten als Überblick dargestellt werden.

1.2. Thrombozyten

Thrombozyten sind kernlose Zytoplasmafragmente der Megakaryozyten. Im peripheren Blut liegt ihre Konzentration zwischen 150 000 und 400 000/μl. Zirkulierende Thrombozyten sind scheibenförmig und haben einen Durchmesser von 1,5 bis 3,5 μm, ihre Dicke beträgt 0,8–1,2 μm. Die mittlere Lebenszeit im peripheren Blut beträgt etwa 7 Tage. Im Zellinneren befinden sich neben Mitochondrien verschiedene Typen von Granula, die nach Aktivierung ihre Inhaltsstoffe freigeben und Proteine wie zum

Beispiel Fibrinogen, Plättchenfaktor 4, PDGF, vW-Faktor, ADP und Serotonin enthalten, die an gerinnungsphysiologischen Abläufen beteiligt sind.

1.2.1. Thrombozytenaktivierung und Aggregation

Nach einer Verletzung des Endothels kommt es im Rahmen der primären Hämostase zu einer Aktivierung zirkulierender Thrombozyten. Die bei der induzierten Thrombozytenaggregation in vitro zu beobachtenden Vorgänge wurden bereits von Holmsen als "basic platelet reaction" zusammengefaßt (Holmsen 1977). Er beobachtete, daß Thrombozyten auf verschiedenste Stimuli einförmig mit einer geordneten Sequenz zellulärer Reaktionen antworten, welche aus Adhäsion, Formveränderung (shape change), Aggregation und Sekretion bestehen.

Die Anlagerung von Thrombozyten an Strukturen verletzter Gefäßwände wird durch Glykoproteinrezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche vermittelt. Die beteiligten adhäsiven Proteine sind u.a. der vW-Faktor (=Glykoprotein Ib/IX/V-Komplex), Kollagen und Fibrinogen. So bildet der spezifische Kollagenrezeptor, das thrombozytäre GP Ia/IIa (=Integrin $\alpha_2\beta_1$) mit subendothelialen Kollagenfibrillen eine Oberflächenverbindung an der verletzten Gefäßwand. Nach Aktivierung kommt es zu einer Vervielfältigung dieses Integrins auf der Thrombozytenoberfläche (Woulfe et al. 2002). Durch den vW-Faktor werden die interzellulären Verbindungen stabilisiert. Dabei handelt es sich um ein adhäsives Glykoprotein, welches den Thrombozyten trotz hoher Scherkräfte ermöglicht, an der Gefäßwand bzw. an weiteren Thrombozyten haften zu bleiben. Dies gelingt über eine vW-Faktor vermittelte Bindung zwischen dem GP IIb/IIIa (=Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$) und den subendothelialen Kollagenfibrillen (Jurk 2005). Dieser Mechanismus induziert die Plättchenaggregation bei sehr starken Scherkräften auch ohne stattgehabte Endothelläsion (Savage und Ruggeri 2002).

Nach Anlagerung kommt es zu einer Formveränderung der Thrombozyten. Die nun stimulierten Zellen wandeln sich von einer Scheibenform zu einer stachelförmigen Kugel mit fadenförmigen Fortsätzen (Pseudopodien). Hierbei verschmelzen die Thrombozyten nach Aktivierung unter Membranauflösung und Sekretion ihrer Granula miteinander, wodurch es unter anderem zu einer Freisetzung von ADP,

Serotonin und Arachidonsäure kommt. Mit Hilfe der Zyklooxygenase werden aus Arachidonsäure die zyklischen Endoperoxide PGG_2 und PGH_2 , sowie Thromboxan A_2 , ein potenter Vasokonstriktor, hergestellt. Dieser verstärkt die irreversible Aggregation.

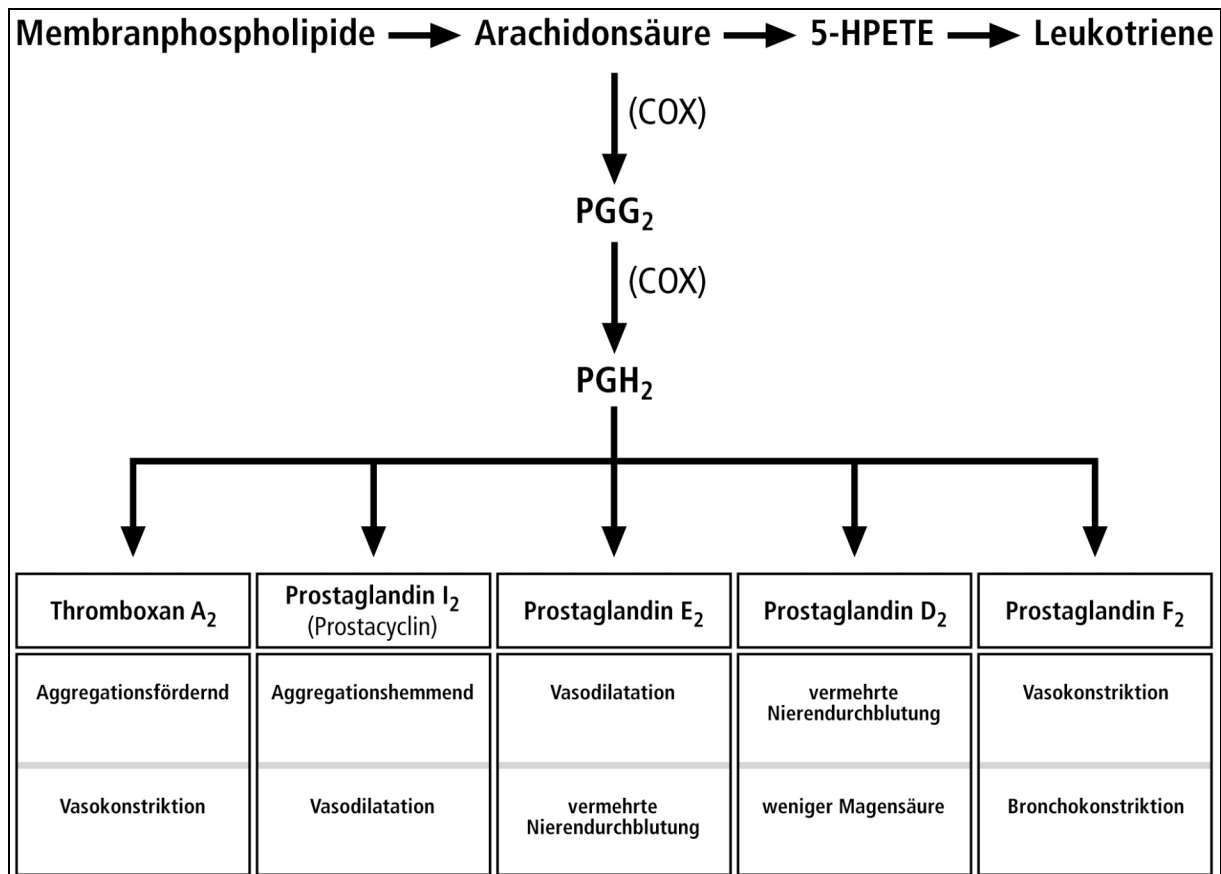


Abbildung 1: Prostaglandinsyntheseweg und physiologischen Wirkungen. COX: Cyclooxygenase; HPETE: Hydroperoxyeicosatetranoid-säure; PG: Prostaglandin (modifiziert nach Michelson).

1.2.2. Antiaggregatorische Mechanismen

Beim Gefäßgesunden kommt es ohne adäquaten Reiz (Verletzung etc.) nicht zur vollständigen Aktivierung der primären Hämostase, da parallel zu den aktivierenden Prozessen auch eine physiologische Hemmung der Thrombozytenaktivierung stattfindet. Diese beruht hauptsächlich auf einer Freisetzung von EDRF und PGI_2 aus dem Gefäßendothel. Beide wirken relaxierend auf die glatten Muskelzellen. PGI_2 ist ein funktioneller Gegenspieler des in den Thrombozyten gebildeten Thromboxan A_2 . Gemeinsame Vorstufe ist das zyklische Endoperoxid PGH_2 , welches mittels der Zyklooxygenase (sowohl der thrombozytären als auch der endothelialen) aus Arachidonsäure generiert wird.

Bei atherosklerotisch veränderten Gefäßwänden sind diese genannten thromboprotektiven Funktionen nicht mehr gewährleistet. Zusätzlich kommt es durch die oben genannten Gefäßveränderungen leichter zu Endothelläsionen.

1.2.3. Thrombozytenaggregationsmessung

Thrombozytenaggregometrie nach Born

Bei der Thrombozytenaggregometrie nach Born (Born 1962) wird unter Verwendung verschiedener Aggregationsagonisten die Thrombozytenaggregation turbidimetrisch bestimmt. Hierbei wird ein Infrarotlichtstrahl durch eine Thrombozytensuspension geleitet und die Änderung der Lichttransmission nach Induktion der Thrombozytenaggregation über einen Schreiber aufgezeichnet. Bei der Analyse wird zunächst ein Aggregometerleerwert bestimmt, indem man mittels plättchenarmen Plasmas das Gerät auf eine 100%–Basislinie eicht. Anschließend folgt eine Eichung auf eine 0%–Basislinie mittels plättchenreichen Plasmas (PRP). Zur Bestimmung der Thrombozytenaggregometrie werden verschiedene Induktoren in das plättchenreiche Plasma pipettiert. Anschließend zeichnet das Gerät für jeden Kanal getrennt die Änderung der Lichttransmission für mindestens zehn Minuten auf. Der Wert des Anstiegswinkels (slope) wird mittels elektronischer Differenzierung für jeden Kanal einzeln ermittelt. Er basiert auf dem Prinzip der linearen Regression bezugnehmend auf den höchsten Aggregationsanstieg in %/min (Bio/Data Corp. 1998). Parallel kann die Reaktivität der Thrombozyten gegenüber verschiedenen Induktoren getestet

werden (Taylor et al. 1992, Ridker et al. 1996, Cox 1998). Die Aggregometrie weist auch eine sehr hohe Sensivität bezüglich der ASS-Wirkung auf die Thrombozyten auf (Mammen et al. 1998, Gurbel et al. 2007).

PFA-100-Methode

Mit dem PFA-100-Gerät kann die Thrombozytenadhäsion bzw.-aggregation in vitro anhand einer Vollblutprobe auf der Grundlage der von Katzer und Born beschriebenen Methode stimuliert werden (1985). Es besteht unter anderem aus einer biologischen Membran mit zentraler Öffnung, welche mit verschiedenen Induktoren beschichtet ist (Kollagen, Epinephrin oder ADP). Bei Austestung wird eine gepufferte Natriumcitrat-Vollblutprobe durch die Öffnung aspiriert und somit die Thrombozyten einem hohen Scherstress ausgesetzt. Außerdem entsteht ein Kontakt mit den Induktoren, wodurch es zusätzlich zum Scherstress zu einer Thrombozytenaktivierung und schließlich zu einer Aggregation mit Membranverschluß kommt. Das PFA-100-Meßgerät ermittelt die Zeit von Testbeginn bis zum vollständigen Membranverschluß. Das Ergebnis wird als Verschlußzeit in Sekunden angegeben. Der Vorteil der PFA-100-Methode liegt in der vollautomatisierten Durchführung, so daß das Meßergebnis unabhängig vom Untersucher ist (Mammen et al. 1998). Außerdem kann eine Vollblutprobe verwendet werden. Die Probe bedarf keiner weiteren Aufbearbeitung (Peters et al. 2001). Kritisch hingegen ist die Stimulation der Aggregation zu betrachten, da hier neben dem Scherstreß parallel eine Stimulation durch zwei Induktoren erfolgt (Kollagen und Epinephrin oder Kollagen und ADP). Somit entspricht die Verschlußzeit des PFA eher einem physiologischen Stimulus nach vaskulärer Endothelläsion. Außerdem werden zusätzliche Aggregationsstimuli der Zell-Zell-Interaktion von Erythrozyten und Thrombozyten angenommen, welche sich nicht durch ASS hemmen lassen (Valles et al. 1998).

Durchflußzytometrie

Das Durchflußzytometer ist ein optisches Meßsystem, welches Streulicht und Fluoreszenzsignale einzelner Partikel analysiert. Hierbei werden die zu analysierenden Partikel hydrodynamisch in einem Flüssigkeitsstrom fokussiert, so daß die einzelnen Partikel nacheinander durch einen Argonlaser beleuchtet werden können. Durch

spezifische Photodioden erfolgt die Registrierung des Streulichtes und die Intensität der Fluoreszenz. So kann über Vorwärtsstreulicht die Zellgröße, über Seitwärtsstreulicht die Homogenität der Zelle und nach Bindung eines fluorochromkonjugierten Antikörpers die Oberflächenexpression von Antigenen bestimmt werden.

Durch Anwendung eines fluoreszenzmarkierten, monoklonalen Antikörpers lassen sich Thrombozyten identifizieren. Dieser Antikörper ist gegen die ausschließlich auf Thrombozyten vorkommenden Fibrinogenrezeptoren GPIIb/IIIa gerichtet. Außerdem besteht die Möglichkeit, über einen Aktivierungsmarker die Thrombozytenaktivität zu ermitteln. Die Durchflußzytometrie erlaubt eine Thrombozytenanalyse im Vollblut und über spezifische Antikörperanhaftung eine Bestimmung der aktivitätsabhängigen Oberflächenänderung. Hierdurch können schon minimale Mengen an aktivierten Thrombozyten bestimmt werden. Außerdem sind nur geringe Blutvolumina nötig. Der Nachteil der Durchflußzytometrie besteht in den hohen Anschaffungs- und Unterhaltskosten sowie einer komplizierten Aufarbeitung der Proben zur Antikörperbindung. Weiterhin ist zur Vermeidung einer ex-vivo-Aktivierung eine rasche Probenverarbeitung (ca. 30 min) notwendig (Cox 1998, Michelson et al. 2002).

1.3. Acetylsalicylsäure

1.3.1. Geschichte

Salicylsäure, bereits 1853 als Antirheumatikum beschrieben, hatte in therapeutischen Dosen stark schleimhautreizende Wirkung und rief Übelkeit und Brechreiz hervor. Felix Hoffmann gelang es im August 1897 erstmals erfolgreich Acetylsalicylsäure in seiner Reinform zu synthetisieren. Eine weitere Neuerung bestand in der Austestung der Substanz, zunächst an sich selbst und später auch an Patienten befreundeter Ärzte. Hierdurch konnte in einer Art klinischen Studie festgestellt werden, daß über 90% der Patienten die neue Substanz besser tolerierten als Salicylsäure.

ASS war jedoch bereits ein halbes Jahrhundert als Antirheumatikum, Analgetikum und Antipyretikum im klinischen Gebrauch, ehe die ersten Mitteilungen über eine Beeinflussung der Hämostase durch die Substanz erschienen. Craven publizierte 1950

die erste Mitteilung über einen antithrombotischen Effekt von ASS bei Männern mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko (Craven 1950). 1968 veröffentlichte O'Brien erste systematische Studien über die Beeinflussung der Thrombozytenfunktion durch ASS an gesunden Probanden und empfahl es als Antithrombotikum (O'Brien 1968). Smith und Willis entdeckten die Hemmung der Prostaglandinbildung durch ASS im Thrombozyten und erklärten damit die thrombozytenfunktionshemmende Wirkung der Substanz (Smith und Willis 1971).

1.3.2. Pharmakokinetik

ASS wird nach oraler Verabreichung rasch im Magen und oberen Duodenum resorbiert. Die höchsten Plasmaspiegel werden nach ca. 30 min verzeichnet, eine Thrombozytenhemmung findet nach ca. einer Stunde statt. Bei magensaftresistenten Tabletten hingegen werden die höchsten Plasmaspiegel nach ca. 3–4h erreicht. Die orale Bioverfügbarkeit von unretardiertem bzw. nichtmagensaftresistentem ASS beträgt ungefähr 40% über eine weite Dosisspanne hinweg. Die Plasmahalbwertszeit von ASS beträgt 15–20 min. Die Elimination erfolgt durch Konjugation mit Glycin hauptsächlich als Salicylsäure und als Glukuronid und freie Salicylsäure mit dem Urin (Schrör 1992).

1.3.3. Grundlagen der antithrombotischen Wirkung von ASS

Grundlage der antithrombotischen Wirkung von ASS ist die Hemmung der physiologischen Thrombozytenfunktion. Diese beruht auf einer irreversiblen Hemmung der Thrombozytenzyklooxygenase nach Azetylierung einer funktionell wichtigen Aminosäure im Zylooxygenasemolekül (Roth und Majerus 1975). ASS ist ein ca. 150-fach stärker wirksamer Inhibitor der konstitutiven Isoform der Thrombozytenzyklooxygenase (COX–1) als die induzierbare Isoform (COX–2), die u.a. in Gefäßwandzellen unter Einfluß von Zytokinen und Wachstumsfaktoren exprimiert wird (Mitchell et al. 1994). Dies erklärt die unterschiedlichen Dosierungen von ASS als Antithrombotikum bzw. Antiphlogistikum. Klinisch relevante prostaglandinunabhängige Mechanismen der thrombozyten-funktionshemmenden Wirkung von ASS sind nicht bekannt (Patrono et al. 2004).

Die antiaggregatorische Wirkung von ASS beruht auf einer Hemmung der thrombozytären Thromboxansynthese nach Inhibition der COX-1. Hierdurch wird in den Thrombozyten die Umsetzung von Arachidonsäure zu Prostaglandin-endoperoxiden und damit die Metabolisierung zu Thromboxan A₂ verhindert. Thromboxan A₂ wirkt stark vasokonstriktiv und fördert die Thrombozytenaggregation. Seine Halbwertszeit beträgt ca. 30 Sekunden. Parallel dazu wird im Gefäßendothel ebenfalls über eine COX-1-Inhibition die Prostazyklinbildung gehemmt, welches antagonistische Wirkung zu Thromboxan A₂ besitzt (thrombozytenaggregationshemmend, vasodilatativ). Bei einigen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Prostazyklinsynthese weit weniger empfindlich gegenüber ASS reagiert (FitzGerald et al. 1983). Außerdem können die kernhaltigen Endothelzellen das durch ASS azytelierte Enzymprotein wieder regenerieren im Gegensatz zu den kernlosen Thrombozyten (Roth und Majerus 1975, Heavey et al. 1985). Somit ist die Thromboxanbildung in den Thrombozyten für deren vollständige Lebensdauer von ca. 6–8 Tage irreversibel gehemmt.

1.3.4. Weitere Thrombozytenaggregationshemmer

Neben der Acetylsalicylsäure existieren weitere Thrombozytenaggregationshemmer mit unterschiedlichen Wirkmechanismen.

Ticlopidin blockiert den ADP-Rezeptor auf Thrombozyten und verhindert dadurch eine Kaskade, die in einer Aktivierung des Glykoproteinrezeptors IIb/IIIa resultiert, was zu einer Bindung von Fibrinogen an Thrombozyten und nachfolgend zu einer Thrombozytenaggregation führt. Es hat aber neben den höheren Tagestherapiekosten auch den Nachteil, eine Neutropenie, Durchfall oder Hautausschlag auslösen zu können.

Clopidogrel als Nachfolgesubstanz von Ticlopidin ist bei einer Einmalgabe von 75mg/d genauso wirksam wie Ticlopidin bei einer Dosierung von 2x250mg/d. Unter Clopidogrel konnte kein erhöhtes Risiko für eine Leukopenie festgestellt werden. Nebenwirkungen wie Hautausschlag und Durchfälle waren jedoch signifikant erhöht.

Dipyridamol ist ein Thrombozytenaggregationshemmer, der die Thrombozytenphosphodiesterase behindert, welche für den Abbau zyklischen AMPs verantwortlich ist. Die daraus resultierende Erhöhung des zyklischen AMPs behindert die Aggregation von Thrombozyten.

Die **GP IIb/IIIa Antagonisten** setzen am gemeinsamen Endpunkt der Thrombozytenaggregation an, unabhängig vom auslösenden Stimulus. GPIIb/IIIa-Antagonisten sind entweder Fab-Fragmente monoklonaler Antikörper gegen den Fibrinogen-Rezeptor der Thrombozyten (z.B. Abciximab = Reopro[®]) sowie Peptide oder Peptidomimetika, die die Bindungsstelle des Fibrinogen an den Rezeptor blockieren (z.B. Eptifibatid = Integrilin[®] bzw. Tirofiban = Aggrastat[®]).

1.3.5. Epidemiologische Studien über die Wirksamkeit von ASS

In vielen epidemiologischen Studien konnte die Wirksamkeit von ASS als Thrombozytenaggregationshemmer statistisch signifikant nachgewiesen werden (Antiplatelet Trialists' Collaboration 1994, Manson et al. 1991, CAPRIE Steering Committee 1996, Dutch TIA Trial study group 1991). Weiterhin besteht jedoch Uneinigkeit über die zu wählende Dosishöhe. Es wurde postuliert, daß für verschiedene Krankheitsbilder unterschiedliche Dosen zu verabreichen sind, außerdem wird in manchen Studien zwischen Sekundär– (ISIS 2 1988, Hoffmann et al. 1991, Husted et al. 1989, Anti-thrombotic Trialists' Collaboration 2002, Diener und Ringleb 2002) und Primärprophylaxe differenziert (Physicians' Health Study Research Group 1989, Manson et al. 1991, Juul-Möller et al. 1992, Primary Prevention Project Collaborative Group 2001).

In mehreren prospektiven Studien wurde bei Patienten ohne klinische Zeichen einer Artherosklerose ASS in verschiedenen Dosishöhen als Primärprophylaxe von kardiovaskulären Erkrankungen untersucht. Es wurde ein breites, uneinheitliches Spektrum an Ergebnissen notiert. In der Physicians' Health Study wurde zum Beispiel eine 44%ige Reduktion eines möglichen ersten Herzinfarktes (sowohl tödlich als auch nichttödlich) bei einer Dosis von 325mg ASS jeden zweiten Tag statistisch signifikant nachgewiesen. Die Gesamtsterblichkeit an kardiovaskulären Erkrankungen war durch ASS jedoch nicht reduziert (Physicians' Health Study Research Group 1989).

Hingegen waren in einer britischen Ärztstudie (6 Jahres Beobachtungszeitraum von 5139 gesunden Probanden, 300–500mg ASS/d mit offener Kontrollgruppe verglichen) keine signifikanten Veränderungen bzgl. der Gesamtsterblichkeit (-10%), der nicht-vaskulären Todesfälle (-15%) und der vaskulären Todesfälle (-6%) zu verzeichnen (Ridker et al. 1990). Hennekens und Mitarbeiter untersuchten in einer Metaanalyse beide oben genannten Studien. Es ergab sich eine signifikante Reduktion der nicht-letalen Myokardinfarkte um 33+/-9%, jedoch zeigte sich keine Differenz hinsichtlich der vaskulären Todesfälle und eine nichtsignifikante negative Wirkung auf die Inzidenz von Schlaganfällen (Hennekens et al. 1989). Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei einer epidemiologischen Untersuchung an 87000 US-amerikanischen Krankenschwestern über einen Zeitraum von sechs Jahren erzielt (Manson et al. 1991, Patrono und Rocca 2008).

Das Primary Prevention Project ergab einen eindeutigen Nutzen von niedrigdosierten ASS (80–100mg/d) zur Primärprävention von kardiovaskulär bedingten Todesfällen bei Patienten mit entsprechendem Risikoprofil (Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus). Auch hier war das Risiko einer nicht-tödlichen Blutungskomplikation nur gering erhöht (Primary Prevention Project 2001).

Daß das Nutzen–Risiko–Verhältnis von ASS bei der Primärprävention nicht in allen Studien einen eindeutig günstigen Effekt zeigte, liegt hauptsächlich an der Zunahme des Blutungsrisikos. In Abhängigkeit des Risikoprofils des Patienten ergibt sich hieraus ebenfalls, je nach Indikationsstellung, ein Argument zur niedrigstmöglichen ASS–Dosis (Motz 1994, Patrono und Rocca 2008).

In der Schwedischen Angina–pectoris–aspirin–Trial erhielten 2035 Patienten mit chronischer, stabiler Angina pectoris ohne vorausgegangenem Myokardinfarkt entweder 75mg ASS/d oder Placebo. Aspirin reduzierte hier das Auftreten eines Myokardinfarktes und plötzlichen Todes um 34% (95% Konfidenzintervall, 24–49%). Die Reduktion möglicher Sekundärereignisse (kardiovaskuläre Ereignisse, Tod durch kardiovaskuläre Erkrankung, Mortalität und Schlaganfälle) betrug zwischen 22 und 32% (Juul–Möller et al. 1992). Dies würde bedeuten, daß eine Aspirinbehandlung

von 1000 Patienten über vier Jahre 51 schwerwiegende, kardiovaskuläre Ereignisse verhindern könnte. Dieser absolute Benefit wäre somit zehnmal größer als in der o.g. amerikanischen und britischen Ärztstudie aufgezeigt.

In der Veterans Administration Trial konnte nachgewiesen werden, daß bei Patienten mit instabiler Angina pectoris 324mg ASS pro Tag das Infarktrisiko und die Infarkt-todesrate um jeweils 50% senkt (Lewis et al. 1983). Zwei weitere Studien mit unterschiedlichen Dosierungen von ASS (4 x 325mg pro Tag bzw. 650mg pro Tag) erbrachten nahezu die gleichen Ergebnisse. Allerdings waren die Magen-Darm-Trakt Nebenwirkungen signifikant höher als in der Placebogruppe (Cairns et al. 1985, Theroux et al. 1988). Obwohl diese genannten Arbeiten bezüglich des Studienaufbaus nicht miteinander vergleichbar sind, konnte doch gezeigt werden, daß die unterschiedlichen Dosishöhen alle den gleichen Effekt hatten. Somit wurde bereits bei 324mg ASS pro Tag ein therapeutischer Maximaleffekt erreicht, und eine niedrigere ASS-Dosierung war als wirksam anzunehmen. Ebenso konnte Patrono feststellen, daß kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Dosishöhe von ASS und der Reduktion von Schlaganfällen oder anderen vaskulären Endpunkten besteht (Patrono et al. 1998). Dies konnte in der skandinavischen RISC-Studie statistisch belegt werden. Hier erhielten Patienten mit einer instabilen Angina-Pectoris-Symptomatik oder einem Non-Q-wave-Infarkt 75mg ASS/d über einen Zeitraum von drei Monaten. Auch hier konnte eine 50%ige Reduktion des Infarktrisikos mit dieser niedrigen Dosierung festgestellt werden (Wallentin 1991). Doch der Vorteil dieser geringen Dosierung liegt nicht nur in einer niedrigeren Nebenwirkungsrate, sondern auch in einem erhaltenen Schmerzempfinden zur Detektion einer ischämischen Phase. Es zeigte sich, daß bei Patienten mit inoperabler, angiographisch nachgewiesener, koronarer Dreigefäßerkrankung eine Durchschnittsdosis von 420mg ASS pro Tag die Ischämiehäufigkeit im Langzeit-EKG reduzierte, andererseits jedoch bei diesen analgetisch wirkenden Dosen 90% der ischämischen Phasen von Patienten nicht wahrgenommen wurden (Mahony 1989). Somit liefe man bei dieser Dosierung Gefahr, neben der gewünschten Inzidenzminderung eines Myokardinfarktes gleichzeitig dessen klinische Symptomatik zu coupiert, und somit ein schnelles Eingreifen

unmöglich zu machen – ein weiterer wichtiger Aspekt, um gezielt eine niedrigstmögliche ASS-Dosierung einzusetzen.

Einen deutlichen Nutzen von ASS zeigen die epidemiologischen Studien was die Sekundärprophylaxe okklusiver Ereignisse betrifft. So wurde in der prospektiven ISIS-2 Studie bei 17187 Patienten mit frischem Myokardinfarkt die Wirkung von Streptokinase im Vergleich zu 162mg ASS alleine oder in Kombination mit Streptokinase geprüft. Die placebokontrollierten Gruppen wurden über einen Zeitraum von fünf Wochen beobachtet. Hierbei ergab sich eine hochsignifikante Reduktion der vaskulären Mortalität um 23%, eine hochsignifikante Reduktion sowohl der nicht-tödlichen Reinfarktrate um 50%, als auch der nichttödlichen Schlaganfälle um 46% (ISIS 2 1988).

In einer weiteren Studie von Ridker erhielten 333 Patienten mit stabiler Angina pectoris jeden 2. Tag eine ASS-Dosis von 325mg, wodurch die Myokardinfarkinzidenz im Vergleich zu einer Placebogruppe um 87% gesenkt werden konnte. Allerdings nahm die Mortalität nicht signifikant ab (Ridker et al. 1991).

In der HOT (Hypertension Optimal Treatment) Studie zeigte sich schon bei einer ASS-Dosis von 75mg/d eine 15%ige Reduktion aller schwerwiegenden kardiovaskulären Ereignisse. Hier blieb die Schlaganfallsinzidenz unbeeinflusst, es wurde eine Zunahme der nicht-letalen Blutungen gemessen (Hansson et al. 1998).

Bezüglich der zu wählenden ASS-Dosierung zur Verhinderung von Reinfarkten verglichen Förster und Hoffmann 30mg vs. 60mg vs. 1000mg ASS/d. Über einen Zeitraum von zwei Jahren konnte gezeigt werden, daß die niedrigste Dosierung gegenüber der höchsten ASS-Dosis die Infarktletalität statistisch signifikant senkte (Hoffmann und Förster 1991). Dieser Effekt konnte auch noch nach vier bzw. sechs Jahren gezeigt werden. Die Anzahl nicht-tödlicher Reinfarkte war in der früheren 30mg ASS-Gruppe um 50% niedriger als in der früheren 1000mg ASS-Gruppe, außerdem ergab sich eine geringere Compliance in der 1000mg Gruppe (Hoffmann

et al. 1991). Problematisch bezüglich der Methodik zeigt sich jedoch die fehlende Randomisierung der Patienten in die einzelnen Dosisgruppen.

In einer anderen Studie verglich Husted placebokontrolliert die Wirksamkeit von 100mg ASS gegenüber 1000mg ASS pro Tag zur Prävention eines Reinfarktes. Es wurde eine signifikante Reduktion der Reinfarkthäufigkeit, aber nicht der infarktabhängigen Todesfälle, Myokardkontraktilität oder Infarktgröße beschrieben (Husted et al. 1989). Trotz unterschiedlicher klinischer Ergebnisse zwischen diesen beiden Dosen kam es zu einer vergleichbaren Hemmung von Thrombozytenaggregation und Thromboxanbildung. Dies bedeutet, daß das schlechtere Ergebnis mit 1000mg ASS/d nicht durch eine stärkere Hemmung der Thromboxanbildung erklärt werden kann, sondern eventuell auf anderen Wirkungen von ASS beruht, die erst bei höheren Dosen auftreten, z.B. eine Hemmung der vaskulären Prostazyklinbildung.

Auch bezüglich einer Sekundärprophylaxe des Schlaganfalles, einer transienten ischämischen Attacke (TIA) und des prolongierten ischämischen neurologischen Defizits (PRIND) liegen mehrere Studien mit unterschiedlichen Ergebnissen bei unterschiedlichen ASS-Dosen vor. Hierbei sei noch erwähnt, daß keine kardiale Ursache wie Tachyarrhythmie die Ursache des Schlaganfalles war. So war die UK-TIA-Trial die erste größere Studie, in welcher eine Dosis von 300mg ASS/d mit einer hohen ASS-Dosis von 1200mg/d und Placebo verglichen wurde. Hierbei konnte nur eine tendenzielle, nichtsignifikante Reduktion aller vaskulären Komplikationen wie nicht-letaler Schlaganfall, nicht-letaler Myokardinfarkt um 19% gegenüber Placebo aufgezeigt werden. Ein Unterschied zwischen den beiden Dosierungen bezüglich dieser Parameter existierte nicht. Lediglich in der Nebenwirkungsrate bestanden ebenfalls nur tendenzielle, nichtsignifikante Unterschiede. So standen 39 gastrointestinale (GI) Blutungen in der 1200mg Gruppe 25 GI-Blutungen in der 300mg gegenüber. In der Placebogruppe kam es zu neun Blutungskomplikationen (UK-TIA 1991). Zwei unterschiedliche Studien mit ähnlichem Studienprotokoll, die International Stroke Trial (IST) und die Chinese acute Stroke Trial (CAST), belegten die Wirksamkeit und Sicherheit von frühzeitiger ASS-Gabe nach akutem Schlaganfall. Nahezu 40000 Patienten wurden in den ersten 24 Stunden nach Auftreten der ersten

Symptome in verschiedene Gruppen randomisiert (300mg, 160mg oder Placebo). Es ergaben sich eine deutliche Reduktion der tödlichen und nichttödlichen Schlaganfälle sowie eine komplette Remission der klinischen Symptomatik bei jeweils zehn Patienten pro 1000 Behandelte. Wenngleich in der Chinese acute Stroke Trial ein dreifach höheres Risiko eines hämorrhagischen Schlaganfalles im Vergleich zur International Stroke Trial bestand, so war der absolute Anstieg dieses Risikos in beiden Studien ähnlich und lag bei zwei Patienten pro 1000 Behandelte (IST 1997, CAST 1997, Patrono et al. 2004). In der schwedischen SALT-Studie konnte belegt werden, daß 75mg ASS/d gegenüber Placebo eine signifikante 16–20%ige Reduktion von nicht-letalen und letalen Schlaganfällen, TIA und Myokardinfarkten erbrachte. Die Nebenwirkungsrate betrug 22% in der ASS-Gruppe gegenüber 18% in der Placebogruppe. Es traten jedoch nur in der ASS-Gruppe tödlich verlaufende, hämorrhagische Infarkte auf ($p=0,03$) sowie neun von 13 GI-Blutungen, die einen Therapieabbruch erforderten (SALT Collaborative Group 1991).

In einer Meta-Analyse über elf placebokontrollierte, randomisierte Studien mit 5228 Patienten, die ASS erhalten haben und 4401 Placebo-Patienten wurde eine Meta-Regression des jeweiligen relativen Risikos bestimmt. Ebenso wurde eine Regression durchgeführt, um die Risikoreduktion pro mg ASS statistisch zu ermitteln. Es konnte gezeigt werden, daß die Dosis-Wirkungskurve über einen Dosisbereich von 50 bis 1500mg ASS/d nahezu gleich ist ($p=0,45$), und das Risiko eines Reinsultes über diese weite Dosisspanne gleichbleibend um nahezu 15% sinkt (Johnson et al. 1999). Da sich bezüglich einer dosisabhängigen Nebenwirkungszunahme kein einheitliches Bild ergab, gingen die Autoren davon aus, eine niedrigstmögliche ASS-Dosierung zu wählen, da bei o.g. dosisunabhängiger Risikominderung kein größerer Nutzen von einer höheren ASS-Dosis zu erwarten wäre.

Weit weniger Studien liegen über die Wirksamkeit von ASS bei der pAVK vor. Die bis jetzt gewonnenen Erkenntnisse sprechen jedoch nicht für eine günstige Wirkung von ASS bei o.g. Erkrankungen. Hess u. Mitarbeiter verglichen in einer prospektiven, placebokontrollierten Doppelblindstudie an 240 Patienten mit pAVK die Wirkung von ASS (330mg) mit ASS+Dipyridamol (330mg+75mg) und Placebo. Über einen Be-

obachtungszeitraum von zwei Jahren konnte eine signifikant geringere Gefäßverschlußrate unter ASS+Dipyridamol aufgezeigt werden. ASS alleine und Placebo unterschieden sich jedoch nicht signifikant. Allerdings zeigten 25–30% der Patienten eine Magenunverträglichkeit gegenüber ASS (Hess et al. 1985).

Mehrfach wurde bei Diabetikern eine Thrombozytenfunktionsstörung im Sinne einer Hyperreaktivität in der Literatur beschrieben (Kubisz et al. 1984, Syrbe 1986, Mori et al. 1991). Die genaue Ursache hierfür ist noch nicht bekannt. Diskutiert wird eine Knochenmarkfunktionsstörung auf Ebene der Megakaryozyten, welche mit einer vermehrten Bildung stimulatorischer thrombozytärer Rezeptoren wie z.B. GPIIb/IIIa, GP Ib oder Fibronektin einhergehen könnte (Tschöpe et al. 1995). Möglich wären jedoch auch Veränderungen im Eikosanoidstoffwechsel, oben bereits erwähnte Gefäßpathologie mit Ablagerung von cholesterolgefüllten Makrophagen, Intima-verdickung und Plaquebildung oder eine Kombination dieser Störungen (Tschöpe 1992). Umgekehrt wird nämlich bei Diabetikern mit adäquater Insulintherapie die gesteigerte Thrombozytenaggregation gehemmt (Hiramatsu et al. 1987). Somit könnte man davon ausgehen, daß Diabetiker aufgrund ihrer gefäßpathologischen Veränderungen eher von einer Prophylaxe mittels ASS profitieren würden.

So läßt die momentane Studienlage die Schlußfolgerung zu, daß ASS unbedingt zur Standardtherapie in der Sekundärprävention von Schlaganfällen und Myokardinfarkten gehört. In allen bisher vorliegenden Arbeiten wurden jedoch selten Laborparameter zur Effizienz der Thrombozytenfunktionshemmung herangezogen. Die zum Teil durchgeführte Metabolitenausscheidung von Thromboxan im Urin läßt sich im klinischen Alltag nicht verwirklichen und birgt auch einen hohen Kostenfaktor in sich. Die Blutungszeit beinhaltet zusätzlich die vaskuläre Komponente der Gerinnung und erlaubt somit keine Rückschlüsse auf die tatsächliche Thrombozytenaktivität. Der PFA (Plättchen–Funktions–Analysator) erlaubt eine Beurteilung der Thrombozytenfunktion und zeigt auch deren Beeinflussung durch ASS an (Peters et al. 2001). Er hat jedoch bezüglich der Sensitivität gegenüber der Thrombozytenaggregometrie keine Vorteile (Mammen et al. 1998).

Das gebräuchlichste Meßverfahren zur Thrombozytenfunktionsbestimmung basiert auf einem bereits 1962 beschriebenen Verfahren (Born 1962). Eine Hemmung der Thrombozytenaggregation erlaubt Rückschlüsse auf angeborene Thrombozytendysfunktionen oder erworbene Funktionsstörungen und ermöglicht so Einblicke in die Physiologie bzw. Pathophysiologie der Thrombozyten (Bick 1992, Ruggeri 1994, George und Shattil 1991). Die Hemmung der Arachidonsäure-induzierten Thrombozytenaggregation zeigt eine Hemmung des Cyclooxygenaseweges in den Thrombozyten (Bye et al. 1979, Moncada und Vane 1979) und ist somit geeignet, eine ASS-induzierte Hemmung der Thrombozytenfunktion anzuzeigen (Taylor et al. 1992, Mammen et al. 1998).

2. Aufgabenstellung

Bei den bisherigen epidemiologischen Dosisfindungsstudien von ASS wurde nach Gabe einer bestimmten Dosishöhe retrospektiv die Wirksamkeit des Medikamentes beurteilt, in dem ein klinisches Ereignis als Endpunkt gewertet wurde. In sehr wenigen vorliegenden Studien wurde nach Medikamentengabe deren Wirksamkeit mittels eines Plättchenfunktionstestes geprüft. Deshalb fokussiert sich diese Studie auf die Thrombozytenaggregation nach Born bei Patienten mit Indikation zur ASS-Medikation.

Es stellten sich folgende Aufgaben:

- Ist mit der Thrombozytenaggregation nach Born die Ermittlung einer individuellen, minimalen ASS-Dosis, welche nahezu vollkommen die Thrombozytenaggregation hemmt, möglich?
- Wie verhält sich die Thrombozytenaggregation mit verschiedenen Induktoren in Abhängigkeit von der ASS-Dosishöhe?
- Zeigen sich Einflüsse durch Medikamente auf die Thrombozytenaggregometrie?
- Zeigen sich Einflüsse durch metabolische Parameter auf die Thrombozytenaggregometrie?

3. Material und Methoden

3.1. Patienten

Untersucht wurden Patienten der Inneren Abteilung des Landesfachkrankenhauses Stadtroda, bei welchen eine Indikation zur Thrombozytenaggregationshemmung bestand. Hierzu zählen: chronisch ischämische Herzkrankheit mit/ohne Angina pectoris, Myokardinfarkt, transitorisch-ischämische Attacke (TIA), prolongiertes ischämisch-neurologisches Defizit (PRIND) oder manifester Insult. Alle Patienten hatten mindestens vier Wochen vor erster Blutentnahme weder Acetylsalicylsäure noch andere nichtsteroidale Antirheumatika oder COX-2-Hemmer eingenommen. Alle Patienten wiesen einen normalen Thrombozytenwert zwischen 150000 und 350000/ μ l auf. Bei keinem Patient bestand vor Blutentnahme eine Kontraindikation zur Thrombozytenaggregationshemmung mittels Acetylsalicylsäure. Kontraindikationen waren: verstärkte Blutungsneigung, Ulcusleiden im Gastrointestinaltrakt, Asthma bronchiale oder Unverträglichkeit von Acetylsalicylsäure.

Bei stationärer Aufnahme wurden Größe, Gewicht, Medikamenteneinnahme mit besonderem Augenmerk auf Nitrate, ACE-Hemmer, Ca-Antagonisten und β -Blocker registriert. Desweiteren wurden folgende Laborparameter registriert: Hämoglobin, Hämatokrit, Leukozyten, Thrombozyten, Erythrozyten, Kreatinin, Nüchternblutzucker, HbA1c, Cholesterin, low density Lipoprotein, Triglyzeride, Blutsenkungsgeschwindigkeit, C-reaktives Protein und Fibrinogen.

3.2. Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte am nüchternen Patienten morgens zwischen 8 und 9 Uhr. Nach kurzer Stauung erfolgte die Blutentnahme aus einer Cubitalvene. Bei der Entnahmetechnik wurde darauf geachtet, keine übermäßige Saugwirkung zu produzieren, um eine artifizielle Hämolyse zu vermeiden. Ebenso wurde darauf geachtet, daß die Stauung der Vene unmittelbar vor Entnahme gelockert oder möglichst ganz entfernt wurde, um die Thrombozytenaktivierung zu minimieren. Die ersten so gewonnenen 5 ml Blutplasma wurden verworfen oder für andere Laborbestimmungen ver-

wendet. Für die Thrombozytenaggregation gewann man 4,5 ml Blutplasma mittels einer kommerziellen Kunststoffspritze, welche mit Natriumcitrat als Antikoagulanzen versehen ist (9 Teile Blutplasma, 1 Teil Natriumcitrat ($\approx 3,8\%$) als Antikoagulanzen, Endkonzentration $0,11 \text{ mol/l}$, Becton Dickinson Vacutainer System, 21 G Kanülen).

3.3. Material und Reagenzien

Zur Ermittlung der Effektivität der Thrombozytenaggregationshemmung mittels Aggregometrie wurden folgende Materialien verwendet.

- Plättchenreiches Plasma (PRP) wurde durch Zentrifugation der Blutproben für 10 min bei $100 \times g$ und Raumtemperatur hergestellt. Das überstehende PRP wurde vorsichtig mit einer Plastepipette in ein Plastegefäß überführt und mit plättchenarmen Plasma (PRP) auf eine Zellzahl von 100.000 Gpt eingestellt.
- PPP wurde durch Zentrifugation des restlichen Blutes für 20 min bei $1500 \times g$ erhalten.
- Folgende Substanzen (MÖLAB/BioData Corporation) wurden für die Induktion der Plättchenaggregation eingesetzt:

Substanz	Konzentration der Gebrauchslösung	Endkonzentration im Test
Adenosin-5-Diphosphat (ADP)	$2 \times 10^{-4} \text{ M}$	$2 \times 10^{-5} \text{ M}$
Adrenalin	$1 \times 10^{-3} \text{ M}$	$1 \times 10^{-4} \text{ M}$
Kollagen	$1,9 \text{ mg/ml}$	$0,19 \text{ mg/ml}$
Arachidonsäure	5 mg/ml	$500 \mu\text{g/ml}$

3.4. Thrombozytenaggregometrie

Zur Messung der Thrombozytenaggregation stand ein Vier-Kanal-Aggregometer (PAP 4™, BioData Corp., USA) vertrieben von der Firma MÖLAB (Deutschland) zur Verfügung. Dieses mißt turbidimetrisch unter Verwendung verschiedener Aggregationsinduktoren die Thrombozytenaggregation nach dem von Born beschriebenen Prinzip (Born 1962). Hierbei wird ein Infrarotlichtstrahl durch eine Thrombozytensuspension geleitet und die Änderung der Lichttransmission kontinuierlich aufgezeichnet. Die Abnahme der Lichttransmission in der Probe widerspiegelt die zunehmende Bildung der Aggregate. Der Meßbereich wird durch PPP mit 100 % Lichttransmission und PRP mit 0 % Lichttransmission für jeden einzelnen Patienten definiert. Nach Aufzeichnung der 0 %-Linie für 3 min wurde den PRP-Proben (jeweils 0,45ml) die verschiedenen Induktoren (jeweils 0,05ml) zugesetzt und die Aggregation für weitere 10 min aufgezeichnet. Alle Messungen wurden bei 37°C und Rühren der Proben mit Magnetrühren (1000 U/min) durchgeführt. Als Parameter der Aggregation wurden der maximale Anstieg der Kurve (slope; Änderung der Lichttransmission/min) und die maximale Aggregation (maximale Änderung der Lichttransmission) bestimmt.

3.5. ASS-Dosisfindung für maximale Hemmung der Aggregation

Nach Aufzeichnung der Ausgangswerte der Aggregation wurde mit einer Gabe von 30mg ASS (Miniasal®) pro Tag begonnen. Nach 7 Tagen erfolgte die zweite Aggregationsmessung sowie eine Bestimmung der Laborparameter Kreatinin, Nüchternblutzucker und Thrombozytenzahl. Eine Abnahme der maximalen AA-induzierten Aggregation unter 30% wurde als effektive Hemmung durch ASS betrachtet. Bei Patienten mit einer AA-induzierten Aggregation > 30% wurde die ASS-Dosis auf 100mg/Tag (Aspirin protect 100®) erhöht und eine Kontrolle der Aggregationshemmung erfolgte nach weiteren 7 Tagen mit eventuell weiterer Dosiserhöhung auf 300 mg/Tag (Aspirin protect 300®). Die Kontrollmessungen und nachfolgenden Dosiserhöhungen auf 500 mg ASS/Tag erfolgten in weiteren 7-Tagesabständen.

Bei 24 Patienten wurde nach Erreichen einer Hemmung der AA-induzierten Aggregation in einem Zeitraum von 2 bis 35 Monaten die Wirksamkeit der ASS-Medikation überprüft.

3.6. Statistik

Die Ergebnisse wurden als Mittelwerte \pm Standardabweichung notiert. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Parametern wurden mit dem Student-t-Test analysiert. $P \leq 0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen.

4. Ergebnisse

4.1. Thrombozytenaggregation bei Patienten mit einer Indikation für ASS vor Beginn der Medikamenteneinnahme

Bei 108 Patienten mit Indikation zur ASS-Therapie wurde vor erstmaliger ASS-Einnahme die Thrombozytenaggregation gemessen. 52 Patienten waren männlich, 56 waren weiblich, im Alter zwischen 46 und 93 Jahren, das durchschnittliche Alter betrug $73,5 \pm 1,0$ Jahre. Mindestens vier Wochen vor der ersten Blutentnahme hat keine Einnahme von NSAR oder COX-2-Inhibitoren stattgefunden. Alle Patienten hatten eine im Normbereich liegende Thrombozytenzahl zwischen $150000/\mu\text{l}$ und $350000/\mu\text{l}$ (Tab. 1). Bei 50 der 108 Patienten war ein Diabetes mellitus Typ II bekannt.

Bei allen 108 Patienten zeigte sich vor ASS-Behandlung eine irreversible Thrombozytenaggregation nach Zugabe der jeweiligen Aktivatoren. Am Beispiel der Abb. 2 wird eine Aggregationskurve der AA-induzierten Aggregation gezeigt.

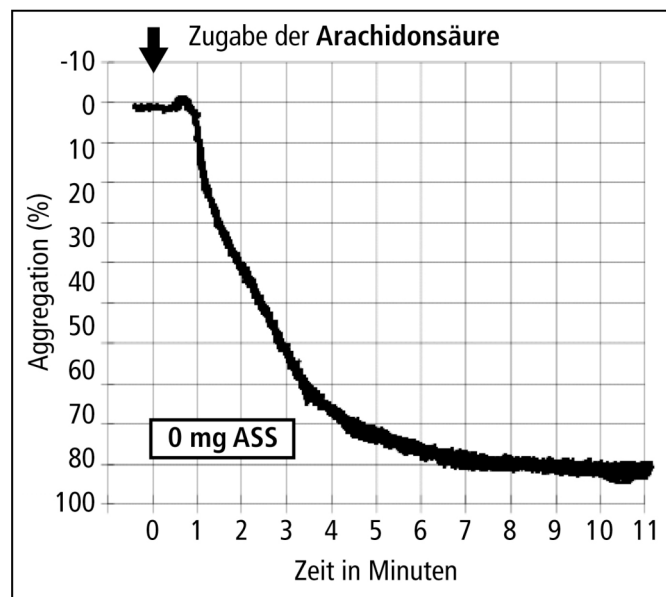


Abbildung 2: Aggregationskurve eines mit ASS unbehandelten Patienten, Zugabe der AA als Induktor mit Pfeil markiert.

Bei allen Patienten wurden vor erster Aggregometrie und ASS-Gabe verschiedene Laborparameter bestimmt (Tab. 1). Entsprechend des Anteils der Typ-II-Diabetiker lagen die Mittelwerte der Blutzucker- und HbA1c-Spiegel oberhalb des Normbereichs. Auch Gesamt- und LDL-Cholesterol, Creatinin und C-reaktives Protein waren im Mittel pathologisch erhöht.

Parameter	MW \pm SEM
Hämoglobin (mmol/l)	8,67 \pm 0,09
Hämatokrit (%)	0,41 \pm 0,00
Erythrozyten (Mill/ μ l)	4,6 \pm 0,04
Leukozyten (/ μ l)	7,63 \pm 0,16
Thrombozyten (1000/ μ l)	229,6 \pm 6,55
Cholesterol (mmo/l)	5,73 \pm 0,13
LDL-Cholesterol (mmol/l)	3,70 \pm 0,12
Triglyzeride (mmol/l)	1,60 \pm 0,09
Fibrinogen (g/l)	3,40 \pm 0,14
C-reaktives Protein (mg/l)	10,7 \pm 1,52
Creatinin (μ mol/l)	97,0 \pm 4,20
Nüchtern-Blutzucker (mmol/l)	6,10 \pm 0,22
Hämoglobin A _{1c} (%)	7,68 \pm 0,29

Tabelle 1: Laborwerte der Patienten vor Beginn der ASS-Medikation

4.2. Arachidonsäure-induzierte Thrombozytenaggregation bei Patienten mit unterschiedlichen ASS-Dosierungen

4.2.1. Hemmung der Arachidonsäure-induzierten Thrombozytenaggregation bei unterschiedlichen ASS-Dosierungen – Einteilung der Patienten in 3 Gruppen

Abb. 3 zeigt Beispiele für die AA-induzierte Aggregation vor und nach Einnahme von ASS. Bei dem hier ausgewählten Patienten wurde mit 30 mg ASS/Tag nur eine unzu-

reichende Hemmung der Aggregation erzielt. Bei einer Dosierung von 100 mg/Tag betrug die maximale Aggregation jedoch deutlich weniger als der geforderte Grenzwert von 30 %.

Abb. 4 zeigt, daß bei 43 Patienten bereits eine ASS-Dosierung von 30 mg/Tag ausreichte, um eine Hemmung der Aggregation > 70 % zu erzielen. 54 Patienten benötigten eine Dosis von 100 mg/Tag und 10 Patienten 300 mg/Tag. Bei einem Patienten wurde der Zielwerte erst bei einer Dosierung von 500 mg/Tag erreicht.

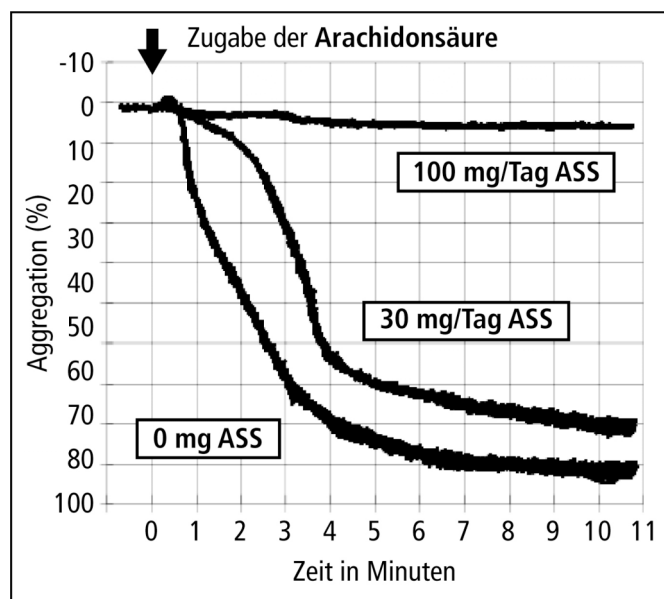


Abbildung 3: typische AA-induzierte Aggregationskurve eines mit 100mg ASS/d effektiv eingestellten Patienten.

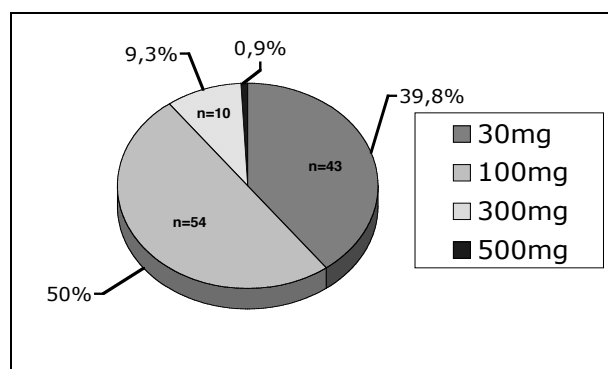


Abbildung 4: Prozentuale Verteilung der 108 Patienten entsprechend der benötigten ASS-Dosierung (mg/Tag) für eine Hemmung der AA-induzierten Aggregation um mehr als 70 %.

4.2.2. Zeitlicher Verlauf und „slope“ der AA-induzierten Aggregation nach Einteilung in die ASS-Dosisgruppen

Die Patienten wurden entsprechend der täglichen ASS-Dosis, die für eine Verminderung der maximalen Aggregation unter 30 % notwendig war, eingeteilt (siehe auch Abb. 4). Abb. 5 zeigt, daß sich der zeitliche Verlauf der Aggregation, gemessen als Amplitude nach 3, 5 und 10 min, in den Gruppen 30 mg, 100 mg und 300 mg nicht voneinander unterschied. Nach ASS-Medikation lag die Aggregationsamplitude in der 30 mg-Gruppe zu allen Zeitpunkten bei etwa 12 %. In der 100 mg-Gruppe war zwar eine signifikante Hemmung der Aggregation bei einer Dosierung von 30 mg zu beobachten, die maximale Aggregation betrug jedoch noch etwa 75 %. Bei der 100 mg-Dosierung lag die Aggregation nur noch etwa 15 bis 20 %. Eine deutliche Abhängigkeit der Aggregationshemmung war auch in der 300 mg-Gruppe nachweisbar. Bei 300 mg ASS betrug die maximale Aggregation weniger als 30 %, war aber deutlich über den Werten der 30 und 100 mg-Guppe (Abb. 5).

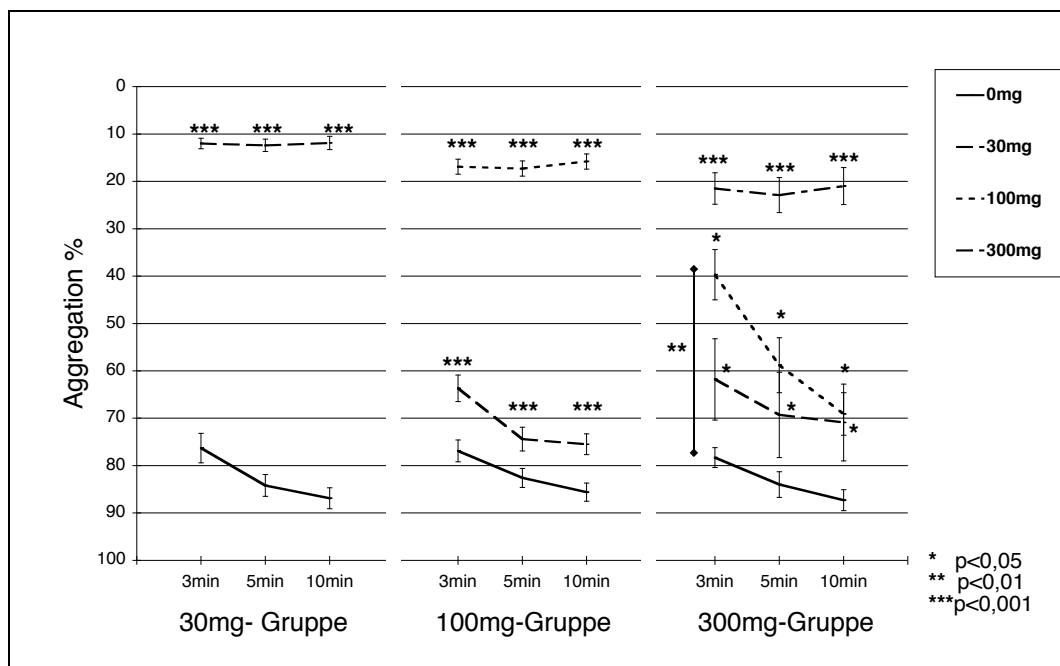


Abbildung 5: AA-induzierte Aggregation bei Patienten mit unterschiedlicher ASS-Dosierung. Dargestellt sind die nach 3, 5 und 10 min erreichten Amplituden der Kurven. Signifikante Unterschiede zwischen den Aggregationskurven vor und nach ASS-Gabe markiert.

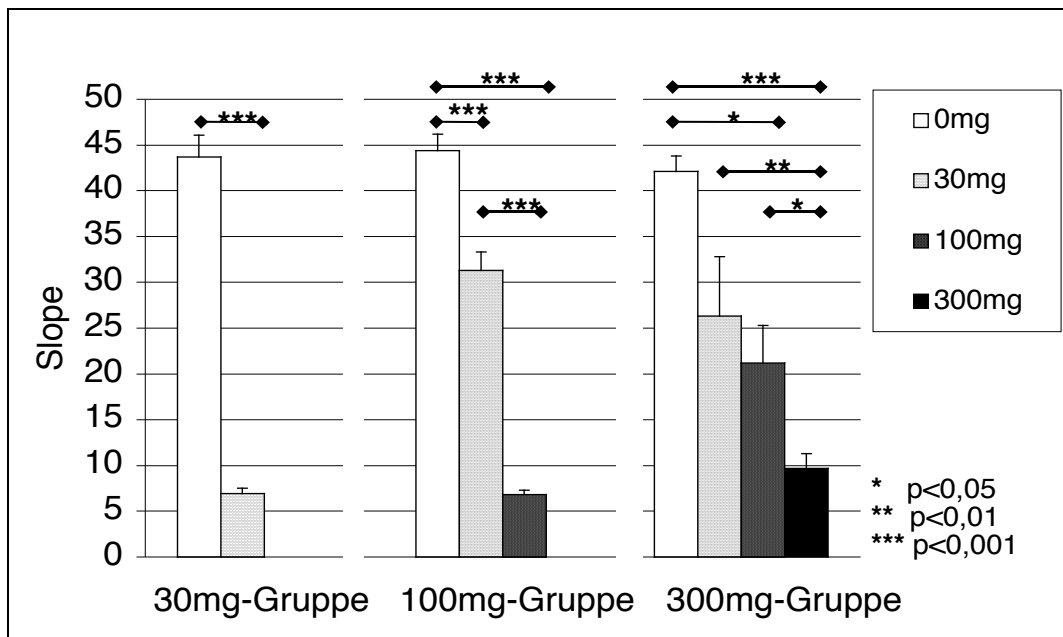


Abbildung 6: AA-induzierte Aggregation bei Patienten mit unterschiedlicher ASS-Dosierung. Dargestellt ist der maximale Anstieg der Kurven (slope; angegeben in %/min).

Abb. 6 zeigt, daß auch der maximale Anstieg der Aggregationskurven (slope) für den Nachweis einer effektiven Hemmung der AA-induzierten Aggregation verwendet werden kann. In der 30 mg-Gruppe verringert sich nach Gabe von 30 mg ASS der Anstieg von etwa 45 %/min auf 7 %/min. Bei den 100 und 300 mg-Gruppen wurde der Anstieg dosis-abhängig verringert und lag bei den jeweils höchsten Dosierungen im Mittel unter 10 %/min.

4.2.3. Labor- und epidemiologische Parameter in den ASS-Dosisgruppen

Um die Frage zu prüfen, ob bestimmte Labor- und epidemiologische Parameter die Effektivität der Aggregationshemmung beeinflussen, wurden verschiedene Parameter in den einzelnen Gruppen miteinander verglichen. Wie Abb. 7 – 9 zeigen, waren Thrombozytenzahl, Creatinin, Nüchternblutzucker (Abb. 7), Größe, Gewicht, Body-Mass-Index, Geschlechtsverteilung (Abb. 8) sowie Plasmalipide (Abb. 9) in den 3 ASS-Gruppen (30, 100 und 300 mg) nahezu identisch.

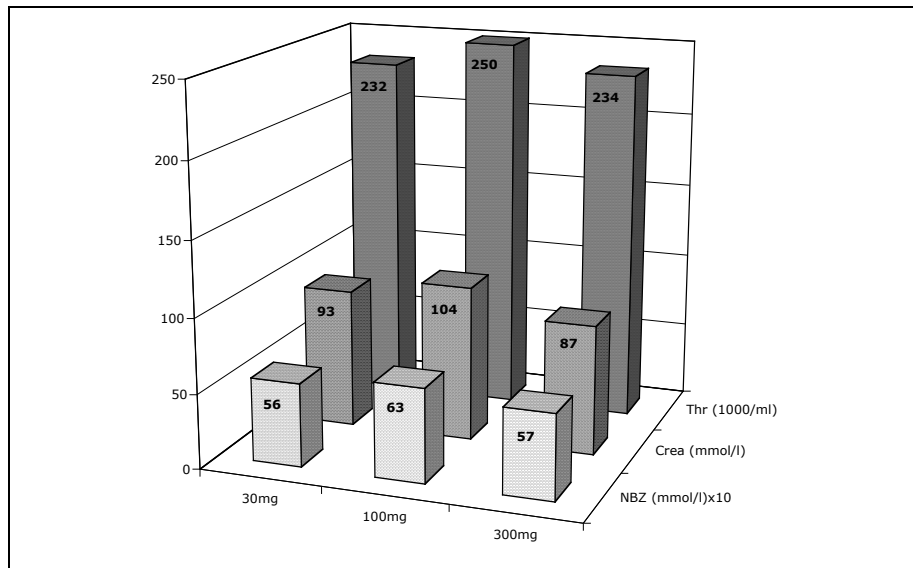


Abbildung 7: Nüchternblutzucker (NBZ), Creatinin (Crea) und Thrombozytenzahlen (Thr) in den verschiedenen ASS-Gruppen. Es wurden keine signifikanten Differenzen zwischen den Gruppen festgestellt.

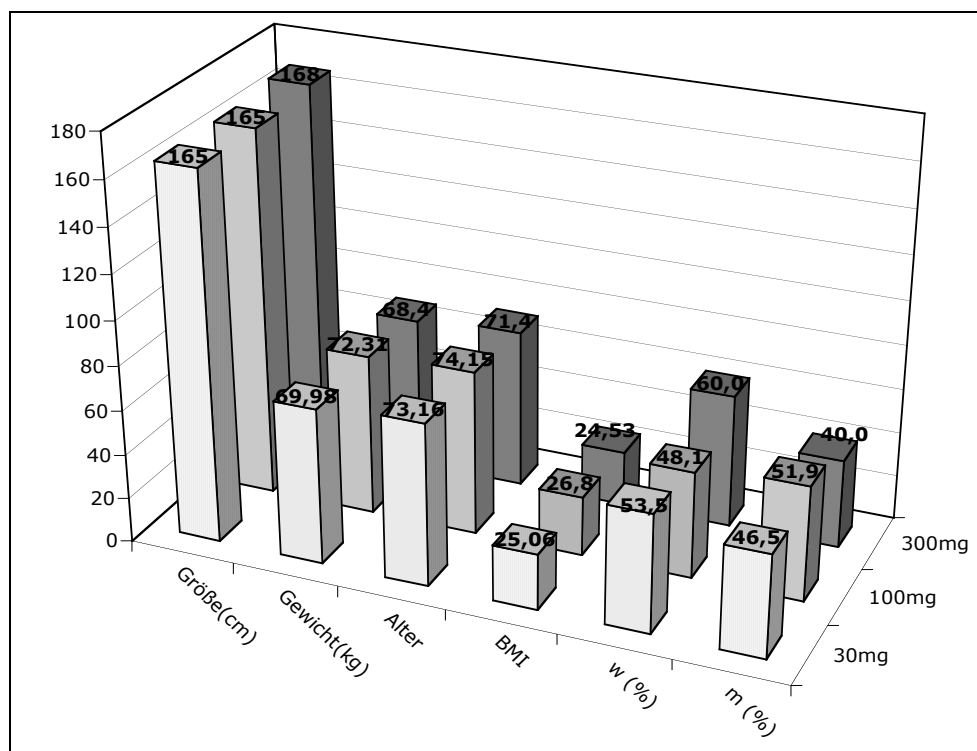


Abbildung 8: Größe, Gewicht, Alter, Body-Mass-Index (BMI) und Geschlecht (m = männlich; w = weiblich) in den verschiedenen ASS-Gruppen. Es wurden keine signifikanten Differenzen zwischen den Gruppen festgestellt.

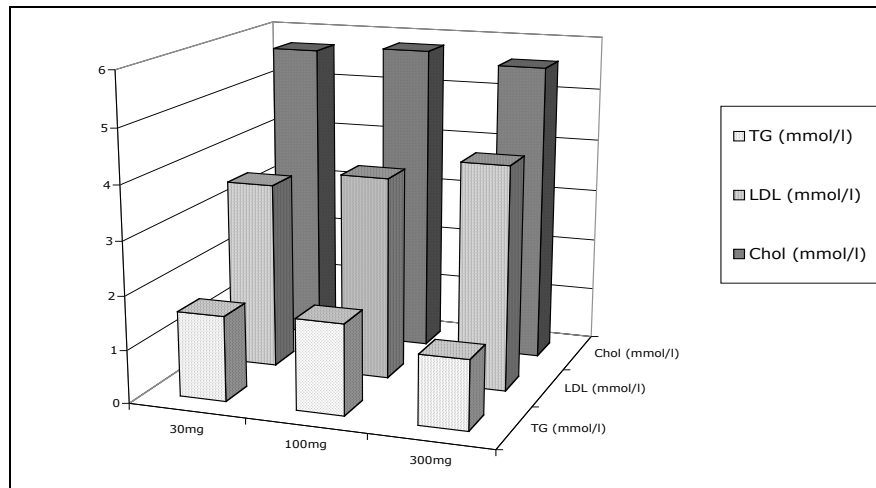


Abbildung 9: Plasmaspiegel von Gesamt-Cholesterin (Chol), LDL-Cholesterin (LDL) und Triglyceriden (TG) in den verschiedenen ASS-Gruppen. Es wurden keine signifikanten Differenzen zwischen den Gruppen festgestellt.

4.3. Thrombozytenaggregation mit anderen Induktoren

Im folgenden Kapitel sollte geprüft werden, inwieweit auch die durch andere Induktoren ausgelöste Thrombozytenaggregation durch ASS gehemmt wird. Dabei wurden die Daten der mit Adrenalin, Kollagen und ADP induzierten Aggregation in den ASS-Gruppen der AA-induzierten Aggregation ermittelt und verglichen.

Die Adrenalin-induzierte Aggregation wurde dosisabhängig durch ASS gehemmt. Dies betraf sowohl die Amplitude als auch den maximalen Anstieg der Aggregationskurven (Abb. 10 und 11). Es zeigte sich jedoch, daß die Hemmung der Aggregation in den verschiedenen ASS-Gruppen wesentlich geringer war als bei der AA-induzierten Aggregation. Die nach 10 min erreichte Amplitude betrug bei den jeweils höchsten ASS-Dosierungen immer noch 60 % und der Anstieg reduzierte sich von 25 bis 30 % auf etwa 17 %.

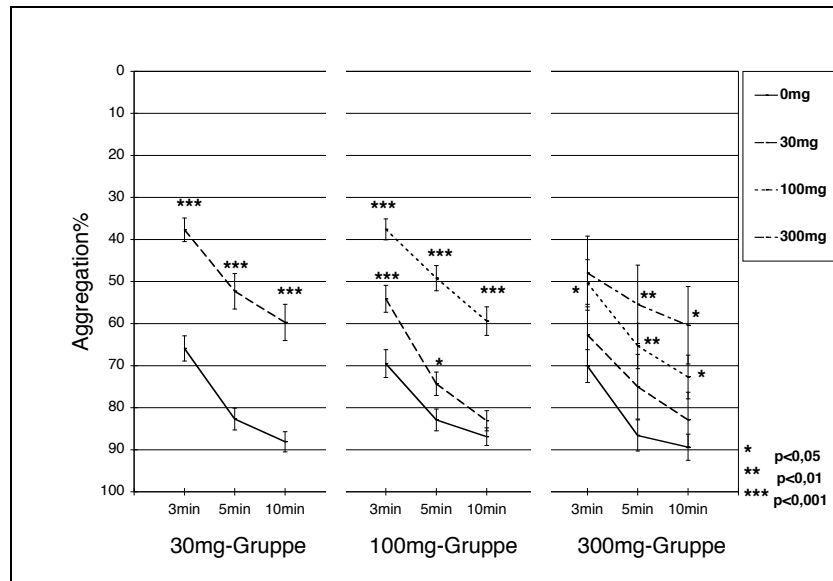


Abbildung 10: Adrenalin-induzierte Aggregation bei Patienten mit unterschiedlicher ASS-Dosierung. Dargestellt sind die nach 3, 5 und 10 min erreichten Amplituden der Kurven. Signifikante Unterschiede zwischen den Aggregationskurven vor und nach ASS-Gabe markiert.

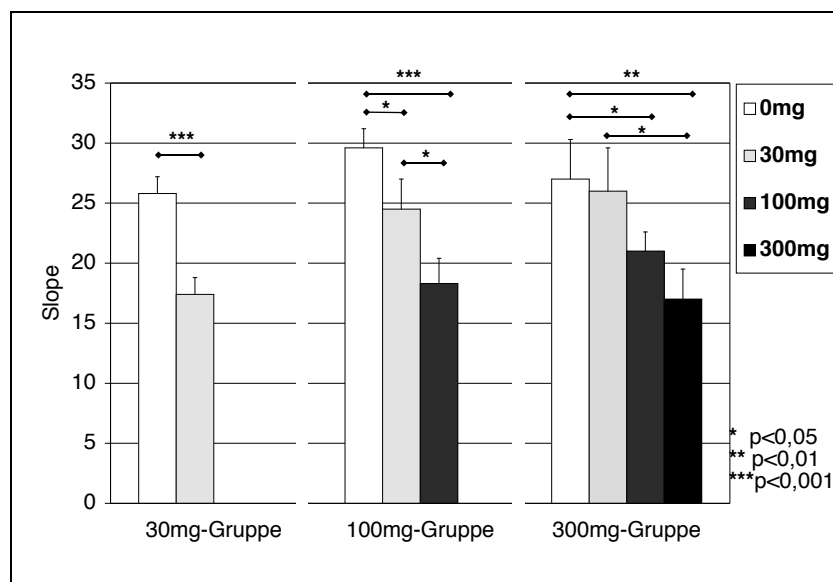


Abbildung 11: Adrenalin-induzierte Aggregation bei Patienten mit unterschiedlicher ASS-Dosierung. Dargestellt ist der maximale Anstieg der Kurven (slope; angegeben in %/min).

Ein anderes Bild wurde bei der Kollagen-induzierten Aggregation erhalten. 30 mg ASS führte zu keiner signifikanten Hemmung der Amplitude. 100 mg ASS hemmte in der 100 mg Gruppe die maximale Aggregation signifikant um etwa 20 %, hatte aber keinen signifikanten Effekt in der 300 mg-Gruppe. In dieser 300 mg ASS-Gruppe ließ sich auch in der höchsten ASS-Dosierung kein eindeutiger Hemmeffekt auf die maximale Aggregation nachweisen (Abb. 12).

Im Vergleich zur Amplitude der Kollagen-induzierten Aggregation reagierte der maximale Anstieg der Kurve empfindlicher auf ASS. Hier wurde in der 30 mg Gruppe bei dieser ASS-Dosierung bereits eine signifikante Abnahme des Anstiegs sichtbar. Auch in den anderen Gruppen waren zumindest die höchsten Dosierungen wirksam (Abb. 13).

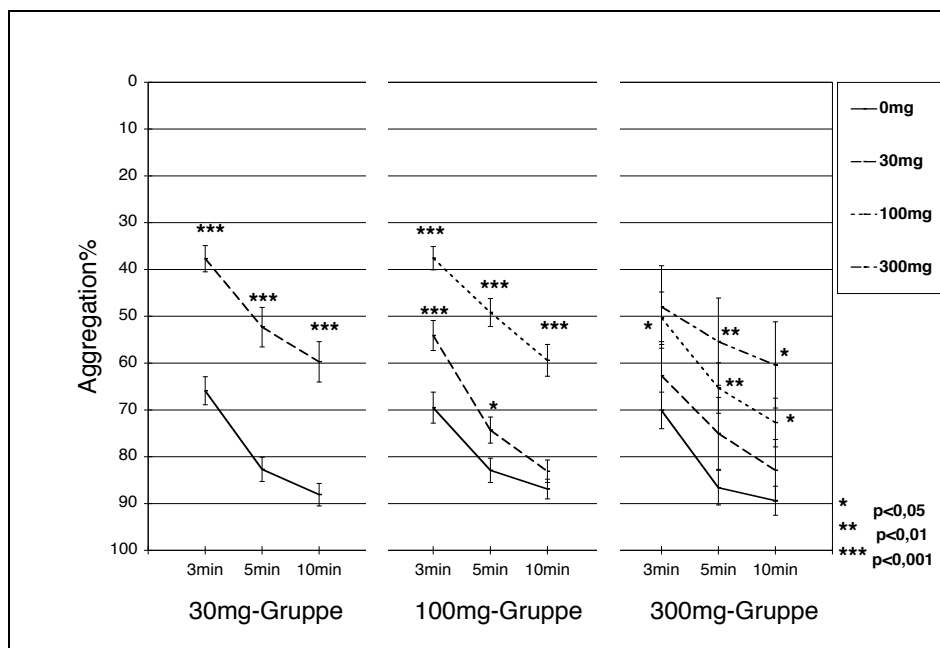


Abbildung 12: Kollagen-induzierte Aggregation bei Patienten mit unterschiedlicher ASS-Dosierung. Dargestellt sind die nach 3, 5 und 10 min erreichten Amplituden der Kurven. Signifikante Unterschiede zwischen den Aggregationskurven vor und nach ASS-Gabe markiert.

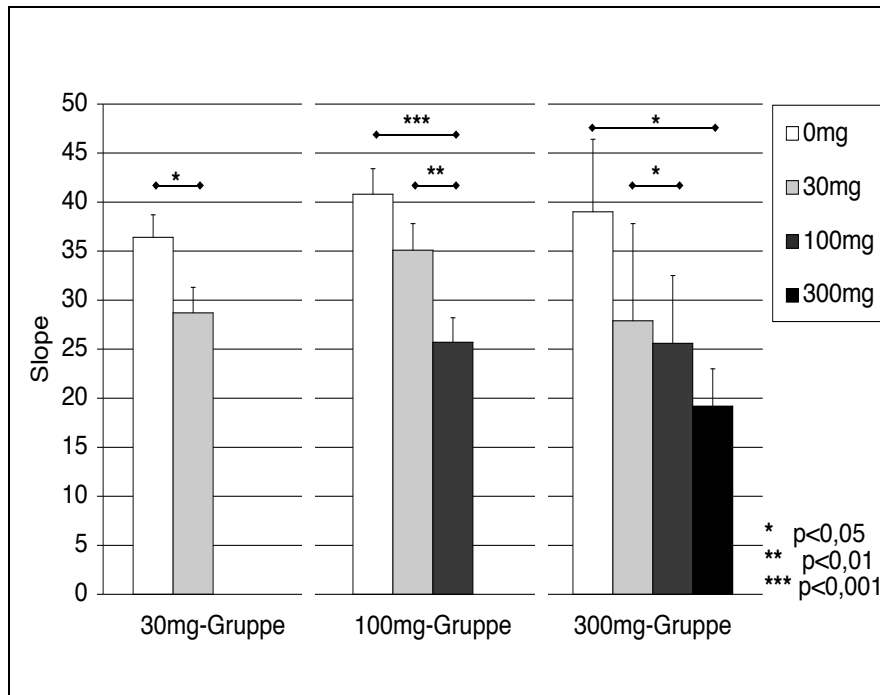


Abbildung 13: Kollagen-induzierte Aggregation bei Patienten mit unterschiedlicher ASS-Dosierung. Dargestellt ist der maximale Anstieg der Kurven (slope; angegeben in %/min).

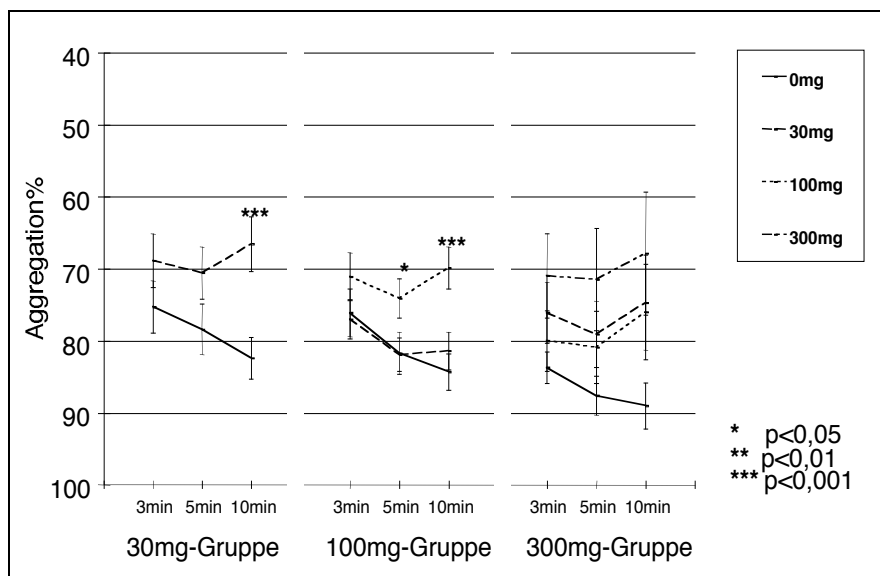


Abbildung 14: ADP-induzierte Aggregation bei Patienten mit unterschiedlicher ASS-Dosierung. Dargestellt sind die nach 3, 5 und 10 min erreichten Amplituden der Kurven. Signifikante Unterschiede zwischen den Aggregationskurven vor und nach ASS-Gabe markiert.

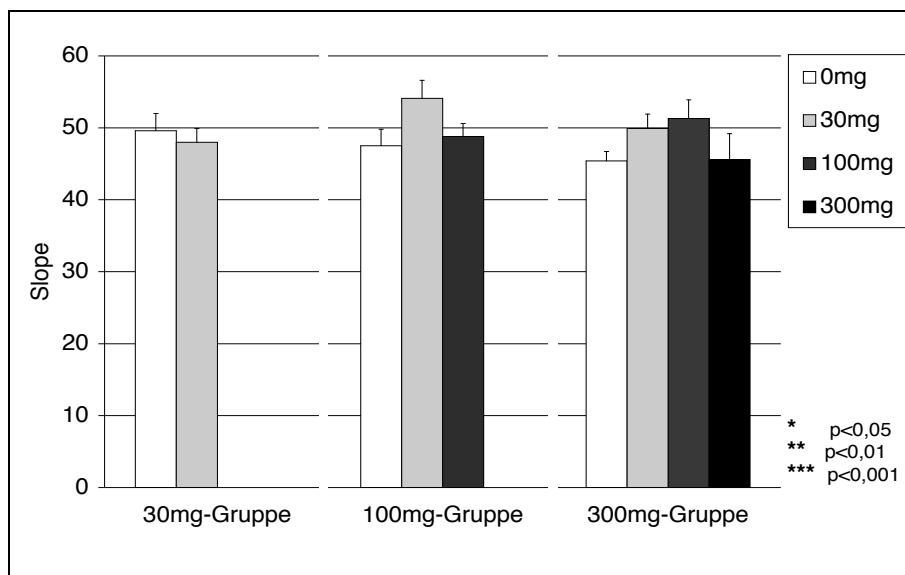


Abbildung 15: ADP-induzierte Aggregation bei Patienten mit unterschiedlicher ASS-Dosierung. Dargestellt ist der maximale Anstieg der Kurven (slope; angegeben in %/min).

Die maximale ADP-induzierte Aggregation wurde in der 30 und 100 mg ASS-Gruppe durch 30 bzw. 100 mg ASS signifikant um 15 bis 20 % gehemmt. Ähnliche Veränderungen zeigten sich auch in der 300 mg Gruppe. Hier waren die ASS-Effekte jedoch nicht signifikant. Auffällig war bei der ADP-induzierten Aggregation, daß die Amplituden vor ASS-Medikation in der 300 mg ASS-Gruppe um etwa 10 % höher lagen als in der 30 mg Gruppe (Abb. 14).

Bei der ADP-induzierten Aggregation hatte keine der ASS-Dosierungen einen signifikanten Effekt auf den maximalen Anstieg der Kurven (Abb. 15).

4.4. Thrombozytenaggregation und andere Parameter bei Diabetikern und Nichtdiabetikern

4.4.1. AA-induzierten Thrombozytenaggregation

Unter den 108 untersuchten Patienten befanden sich 50 Typ 2 Diabetiker, was einem Anteil von 46,3% entsprach. 19 Diabetiker (17,6%) gehörten zu der 30mg-Gruppe,

26 (24,1%) zu der 100mg–Gruppe und 4 Patienten (3,8%) zu der 300mg–Gruppe. Der Patient, welcher zur effektiven Aggregationshemmung 500mg ASS benötigte, war ebenfalls Diabetiker. Somit ergab sich keine signifikante Auffälligkeit bezüglich des Verteilungsmusters zwischen Diabetiker und Nichtdiabetiker in den einzelnen Dosisgruppen (Abb. 16).

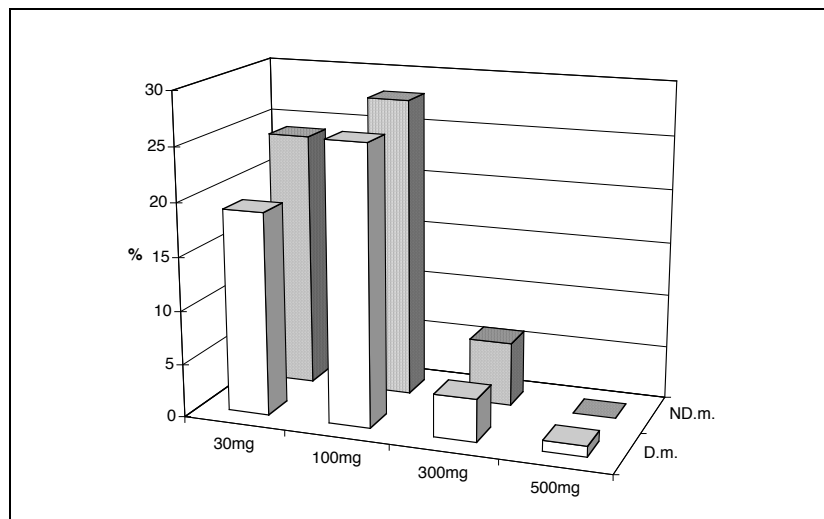


Abbildung 16: Prozentuale Verteilung Diabetiker (D.m.)/Nichtdiabetiker (ND.m.) in den ASS-Dosisgruppen.

Auch in den verschiedenen ASS-Dosisgruppen unterschieden sich die Amplituden oder die maximalen Anstiege der Aggregationkurven von Diabetikern und Nicht-Diabetikern nicht eindeutig voneinander (Abb.17 – 20).

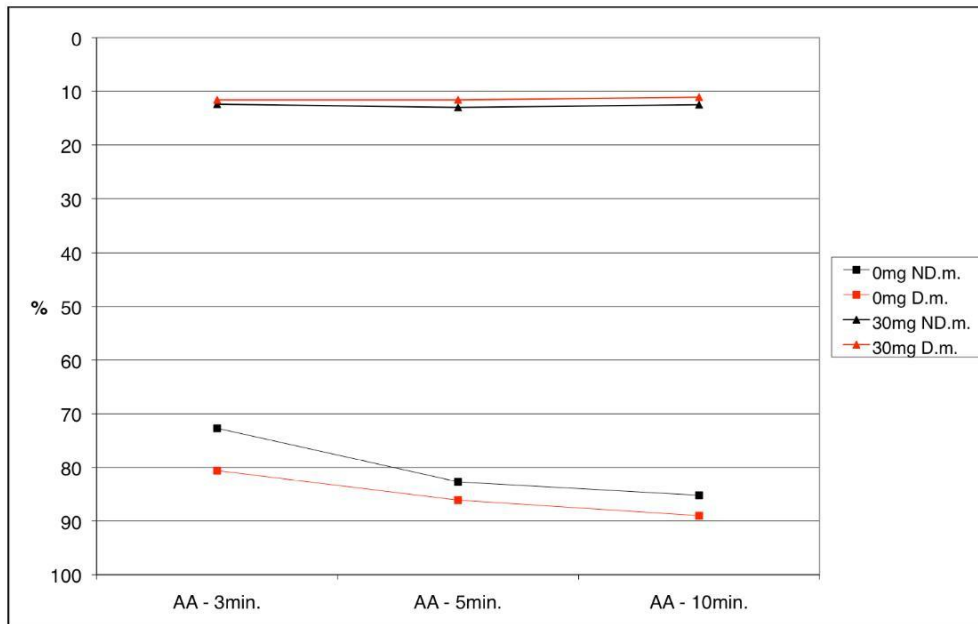


Abbildung 17: AA-induzierter Aggregation bei Diabetikern (D.m.) und Nicht-diabetikern (ND.m.) in der 30mg ASS-Gruppe. Dargestellt sind die nach 3, 5 und 10 min erreichten Amplituden der Kurven. Auf eine Darstellung der Standardabweichungen wurde wegen einer besseren Übersichtlichkeit verzichtet.

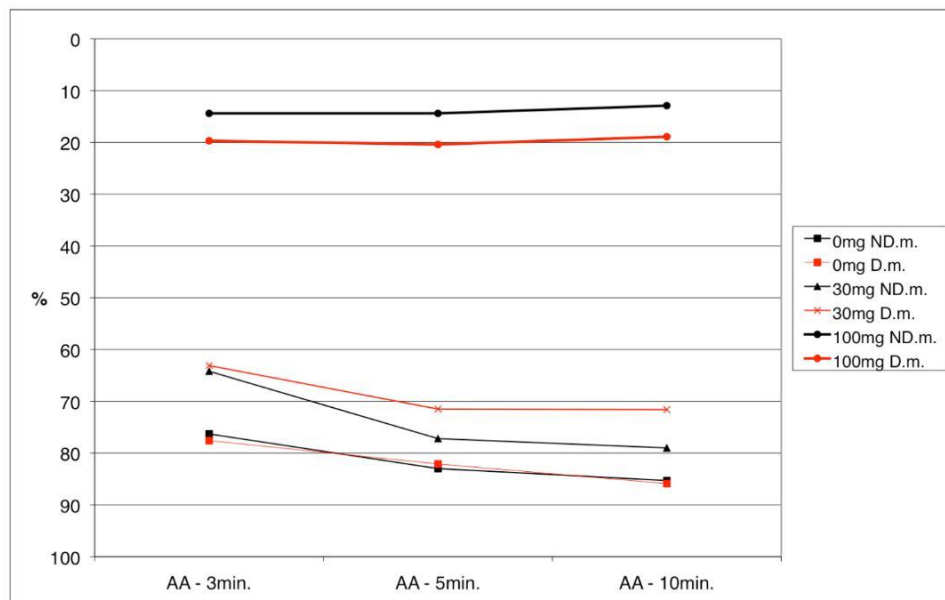


Abbildung 18: AA-induzierter Aggregation bei Diabetikern (D.m.) und Nicht-diabetikern (ND.m.) in der 100mg ASS-Gruppe. Dargestellt sind die nach 3, 5 und 10 min erreichten Amplituden der Kurven. Auf eine Darstellung der Standardabweichungen wurde wegen einer besseren Übersichtlichkeit verzichtet.

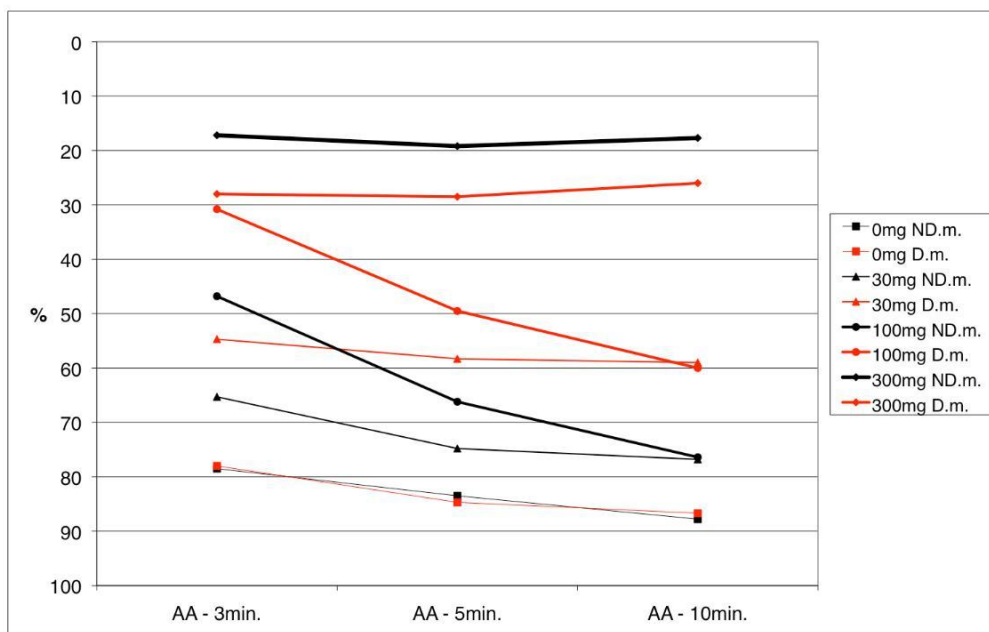


Abbildung 19: AA-induzierter Aggregation bei Diabetikern (D.m.) und Nicht-diabetikern (ND.m.) in der 300mg ASS-Gruppe. Dargestellt sind die nach 3, 5 und 10 min erreichten Amplituden der Kurven. Auf eine Darstellung der Standardabweichungen wurde wegen einer besseren Übersichtlichkeit verzichtet.

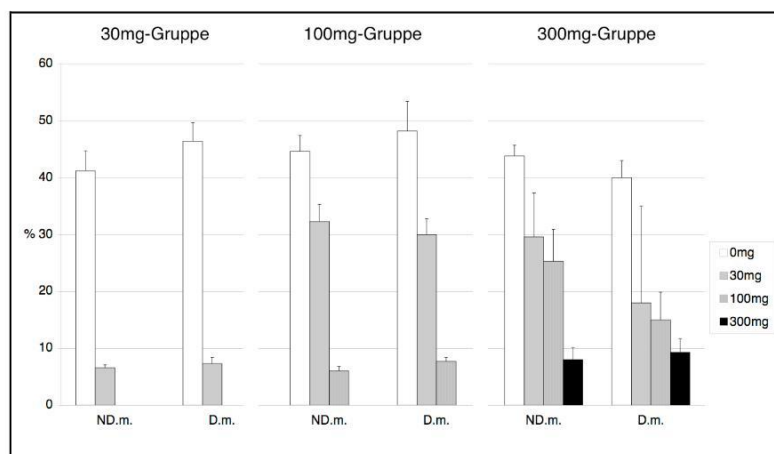


Abbildung 20: AA-induzierter Aggregation bei Diabetikern (D.m.) und Nicht-diabetikern (ND.m.). Dargestellt ist der maximale Anstieg der Kurven (slope; angegeben in %/min).

4.4.2. Thrombozytenzahlen, Gewicht und BMI sowie Plasmalipide

In Analogie zu dem nahezu identischem Ansprechen der Diabetiker und Nicht-Diabetiker auf die ASS-Medikation fanden sich auch keine Unterschiede zwischen

den beiden Patientengruppen hinsichtlich Größe, Gewicht und BMI (Abb. 21) sowie Plasmalipide (Abb. 22). Lediglich in der Thrombozytenzahl zeigten die Diabetiker tendenziell niedrigere Werte als Nicht-Diabetiker mit teilweise signifikanten Unterschieden in Untergruppen (Tab. 2).

	30 mg		100 mg		300 mg	
	ND.m.	D.m.	ND.m.	D.m.	ND.m.	D.m.
Aufnahme	241±18	197±11*	244±13	228±12	240±26	188±26
0mg	236±17	201±11	222±9	237±11	261±32	174±41
30mg	246±19	212±13	268±15	236±15	236±24	230±33
100mg			276±13	224±10**	231±26	188±25
300mg					257±44	200±34

Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM in 1000/ μ l. *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001

Tabelle 2: Vergleich Thrombozytenzahlen zwischen Diabetikern (D.m.) und Nicht-Diabetikern (ND.m.) der einzelnen Dosisgruppen.

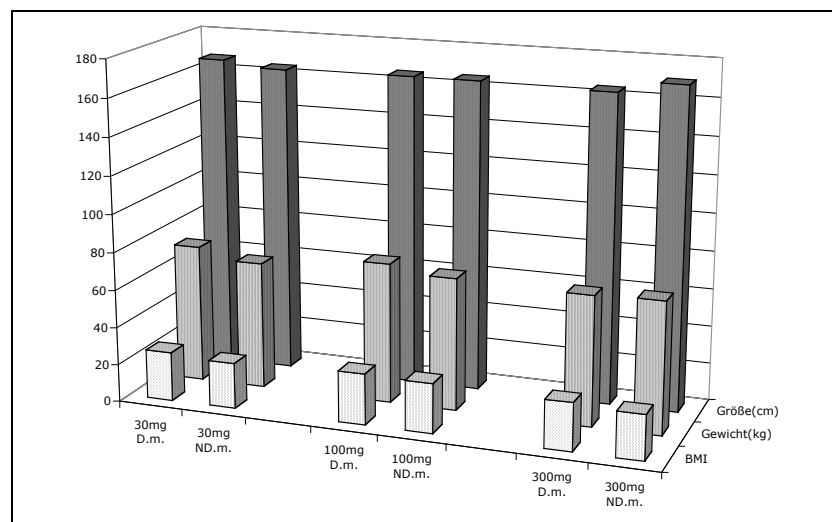


Abbildung 21: Größe, Gewicht und BMI bei Diabetikern (D.m.) und Nicht-diabetikern (ND.m.) in den einzelnen ASS-Dosisgruppen.

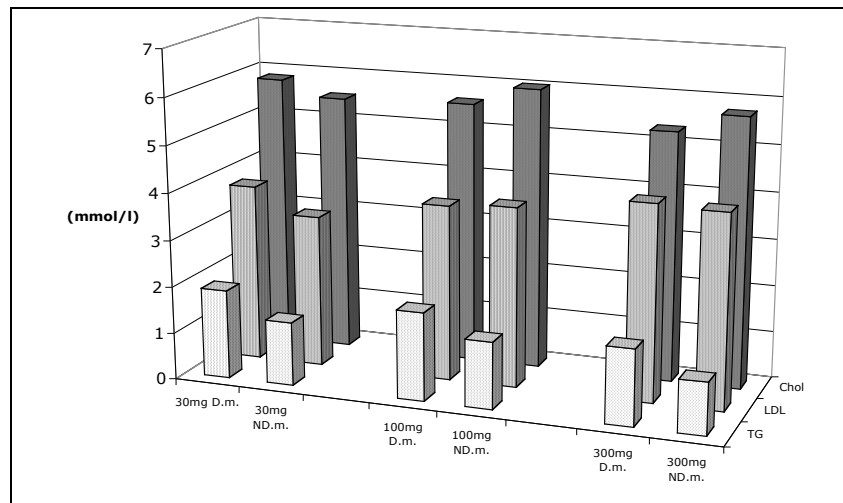


Abbildung 22: Plasmaspiegel von Cholesterin (Chol), LDL-Cholesterin (LDL) und Triglyceriden (TG, alle Werte in mmol/l) bei Diabetikern (D.m.) und Nichtdiabetikern (ND.m.) in den einzelnen ASS-Dosisgruppen.

4.4.3. Thrombozytenaggregation mit anderen Induktoren bei Diabetikern und Nicht-Diabetikern

In Analogie zu AA-induzierten Aggregation unterschieden sich Diabetiker und Nicht-Diabetiker auch nicht signifikant in den Parametern der durch ADP, Adrenalin oder Kollagen-induzierten Aggregation vor und nach Medikation mit ASS. Dies ist beispielsweise in den Abb. 23 – 25 für die maximalen Anstiege der Aggregationskurven dargestellt.

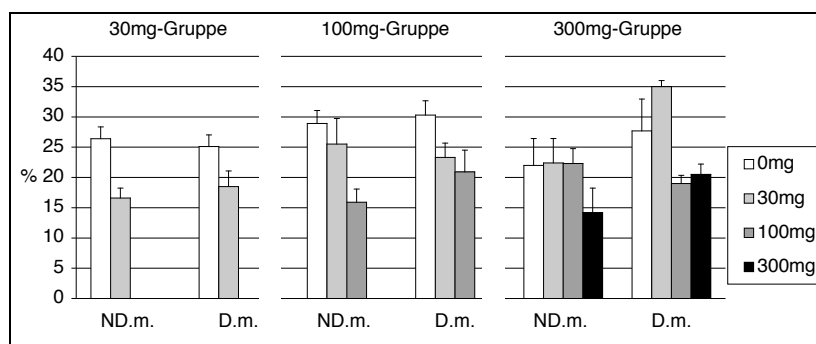


Abbildung 23: Adrenalin-induzierter Aggregation bei Diabetikern (D.m.) und Nichtdiabetikern (ND.m.). Dargestellt ist der maximale Anstieg der Kurven (slope; angegeben in %/min).

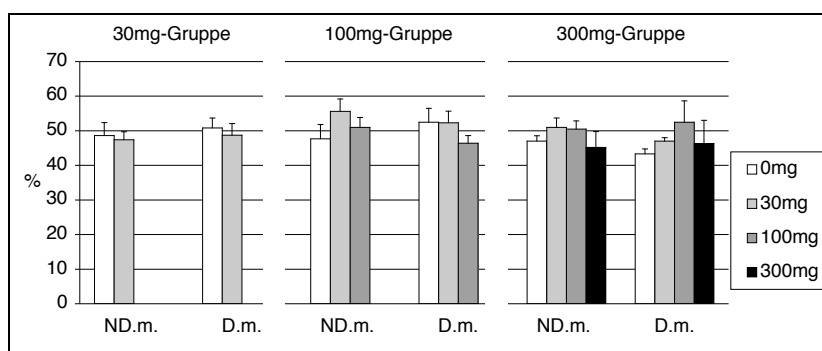


Abbildung 24: ADP-induzierter Aggregation bei Diabetikern (D.m.) und Nichtdiabetikern (ND.m.). Dargestellt ist der maximale Anstieg der Kurven (slope; angegeben in %/min).

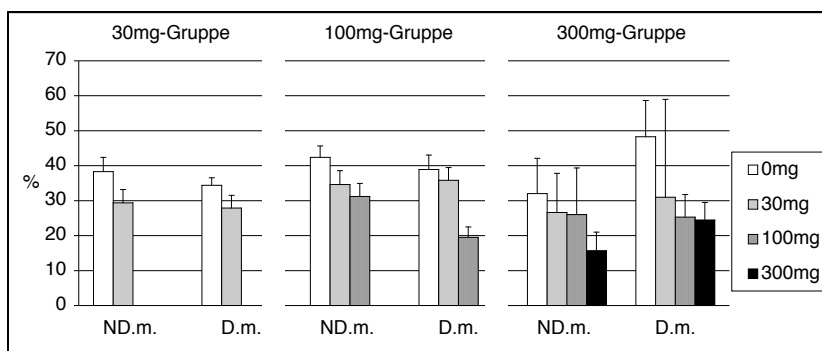


Abbildung 25: Kollagen-induzierter Aggregation bei Diabetikern (D.m.) und Nichtdiabetikern (ND.m.). Dargestellt ist der maximale Anstieg der Kurven (slope; angegeben in %/min).

4.5. Möglicher Medikamenten–und Nikotineinfluß auf die Thrombozytenaggregation

Die verschiedenen Dosisgruppen wurden nach erreichter effektiver Aggregationshemmung bezüglich der prozentualen Verteilung des jeweiligen Medikamentes untersucht. Weiterhin fand eine statistische Auswertung der gesamten Population bezüglich des jeweiligen Medikamentes statt, und ob ein Unterschied in der Aggregation mit den verschiedenen Induktoren zu verzeichnen war.

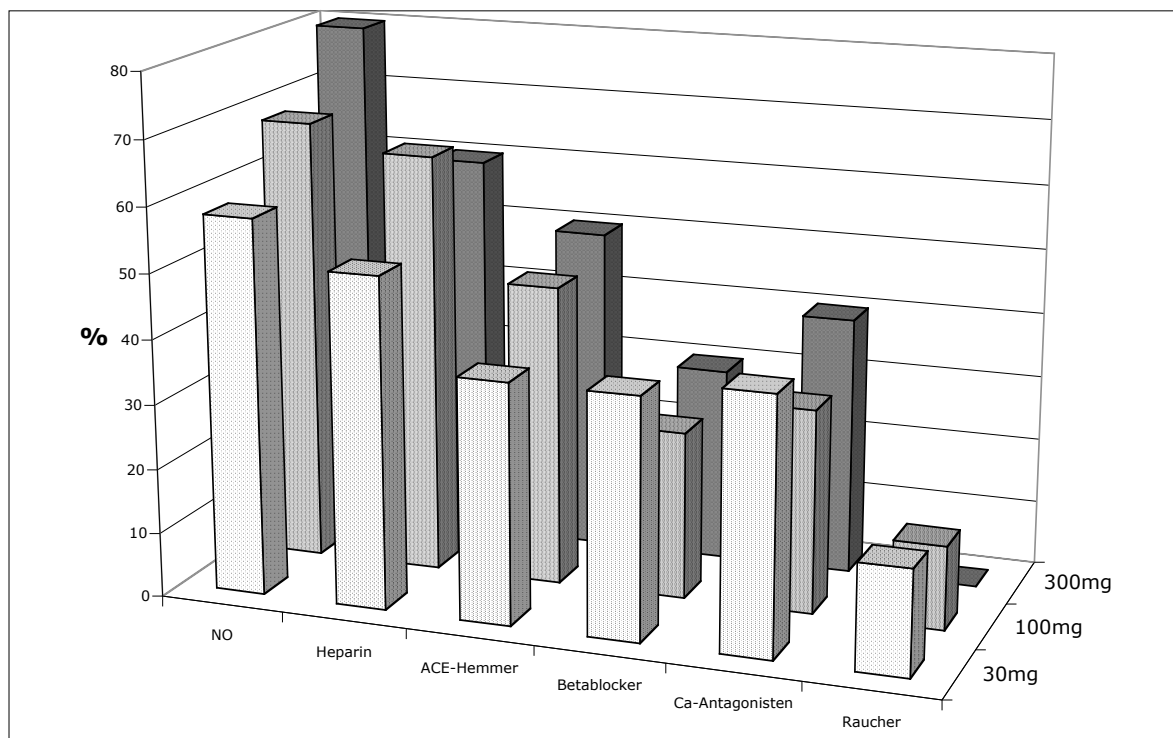


Abbildung 26: Prozentuale Verteilung der zusätzlichen Medikamente und der Raucher in den einzelnen Dosisgruppen.

In den einzelnen Dosisgruppen gab es ein deutlich unterschiedliches Verteilungsmuster der zusätzlich verordneten Medikamente (Abb. 35). Trotz der unterschiedlich prozentualen Verteilung der parallel zur ASS-Medikation verabreichten Medikamente hatten diese keinen Einfluss auf die Thrombozytenaggregometrie. So konnten in der Auswertung der jeweiligen Medikamentengruppe (ACE-Hemmer, Betablocker, Ca-Antagonisten, Heparin und Nitrate) zwischen Patienten, welche das Medikament

einnahmen oder nicht, keine Auswirkung auf die jeweilige Aggregation mit den verschiedenen Induktoren aufgezeigt werden (Daten nicht dargestellt).

Bezüglich des Nikotinkonsumes ließen sich bei den Ausgangsmessungen der Thrombozytenaggregation vor ASS-Einnahme ebenfalls keine Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern feststellen (Maximum der Aggregation und Slope). Bei der 30mg- und 100mg-Gruppe war bei Rauchern nach ASS-Gabe das Ausmass der Adrenalin-induzierte Aggregation signifikant stärker reduziert. Es fanden sich jedoch keine Unterschiede in der maximalen Geschwindigkeit der Aggregation (slope; Tabelle 3 und 4). Bei den durch andere Induktoren ausgelösten Aggregationen bestanden ebenfalls keine Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern.

	Aggregation (%)						Slope	
	3 min		5 min		10 min			
	NR	R	NR	R	NR	R	NR	R
Vor ASS	65,7 ±3,3	66,9 ±8,3	81,2 ±2,9	90,1 ±3,3	86,3 ±2,8	97,0 ±1,5	48,9 ±2,3	24,4 ±4,2
Nach ASS	39,7 ±2,9	27,1 ±8,4	56,1* ±4,5	32,9* ±9,3	62,9 ±4,6	43,6 ±11,6	48,4 ±2,1	15,1 ±1,8

*p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001

Tabelle 3: Vergleich der Adrenalin-induzierten Aggregation bei Rauchern (R) und Nichtrauchern (NR) der 30mg ASS-Gruppe vor und nach ASS-Einnahme.

	Aggregation (%)						Slope	
	3 min		5 min		10 min			
	NR	R	NR	R	NR	R	NR	R
0mg	69,6 ±3,7	68,7 ±5,1	83,0 ±2,9	81,8 ±5,4	86,9 ±2,3	86,3 ±5,6	29,4 ±1,8	31,0 ±3,1
30mg	56,6* ±3,2	37,3* ±11,5	75,7 ±2,9	65,0 ±8,2	84,0 ±2,4	77,1 ±8,5	25,6 ±2,8	17,3 ±3,9
100mg	39,8* ±2,6	22,6* ±5,5	51,6* ±2,9	32,9* ±11,2	62,3* ±3,3	40,2* ±13	18,9 ±2,3	14,3 ±3,4

p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001

Tabelle 4: Vergleich der Adrenalin-induzierten Aggregation bei Rauchern (R) und Nichtrauchern (NR) der 100mg ASS-Gruppe. *

Die Raucher gaben einen durchschnittlichen Nikotinkonsum von 13 Zigaretten/d an. Weiterhin war ein erhöhter Hämoglobinwert bei den Rauchern zu verzeichnen ($9,24 \pm 0,2$; bei Nichtrauchern $8,6 \pm 0,1$; $p < 0,02$) sowie ein signifikant höheres Gewicht (Raucher $83,5 \pm 6,02$; Nichtraucher $69,4 \pm 1,3$; $p < 0,001$) bei einem nichtsignifikanten Unterschied des Body-mass-Index (Raucher $27,44 \pm 1,35$; Nichtraucher $25,8 \pm 0,44$; $p = 0,18$). Bei den übrigen verzeichneten Laborparametern ergaben sich keine signifikanten Differenzen.

4.6. Verlaufskontrolle von Patienten mit einer ASS-Medikation und erneute Durchführung einer Thrombozytenaggregation

Die Patienten wurden mit der ASS-Dosis entlassen, welche zu einer maximalen Hemmung der Arachidonsäure-induzierten Thrombozytenaggregation führte. 24 Patienten konnten in den nächsten 2 bis 35 Monaten (13 ± 2 Monate) nachuntersucht werden. 8 Patienten gehörten der 30mg-Gruppe und 15 Patienten der 100mg-Gruppe an. Bei allen Patienten wurde geprüft, ob die jeweilige ASS-Dosis immer noch die Aggregation ausreichend hemmte. Für die Arachidonsäure-induzierte

Aggregation fanden sich weder in der 30 mg ASS-Gruppen noch in der 100 mg ASS-Gruppe signifikante Unterschiede im Ausmass und auch im Slope zwischen erster und zweiter Messung. Auch bei der durch ADP, Adrenalin oder Kollagen induzierten Aggregation gab es keine wesentlichen Unterschiede zwischen erster und zweiter Messung (Abb. 36 – 41).

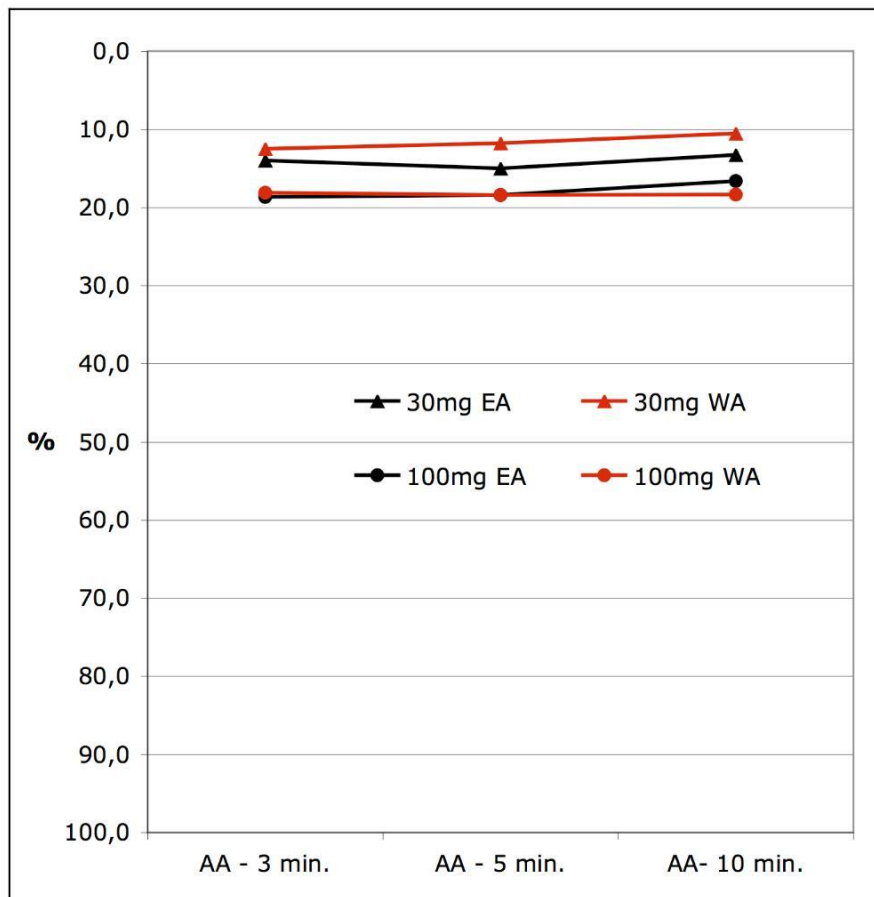


Abbildung 27: Arachidonsäure-induzierte Aggregation der Patienten der 30 mg und 100 mg ASS-Gruppen bei Erstaufnahme (EA) und Wiederaufnahme (WA) nach zwei bis 35 Monaten. Dargestellt ist die nach 3, 5 und 10 Minuten erreichte Amplitude der Aggregation (%).

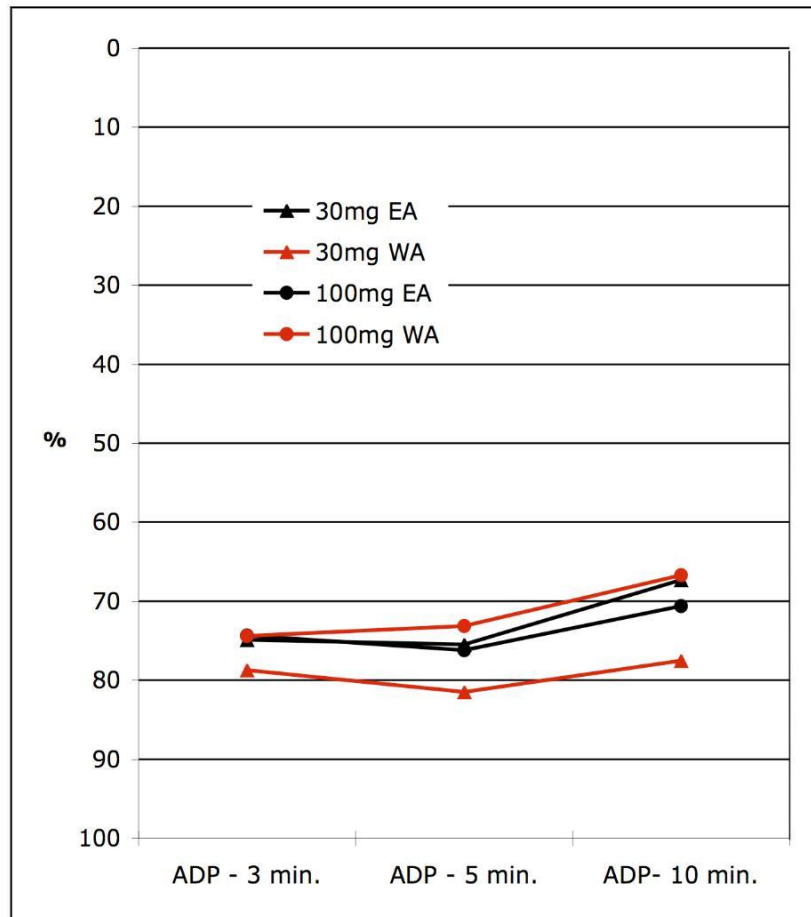


Abbildung 28: ADP-induzierte Aggregation der Patienten der 30 mg und 100 mg ASS-Gruppen bei Erstaufnahme (EA) und Wiederaufnahme (WA) nach zwei bis 35 Monaten. Dargestellt ist die nach 3, 5 und 10 Minuten erreichte Amplitude der Aggregation (%).

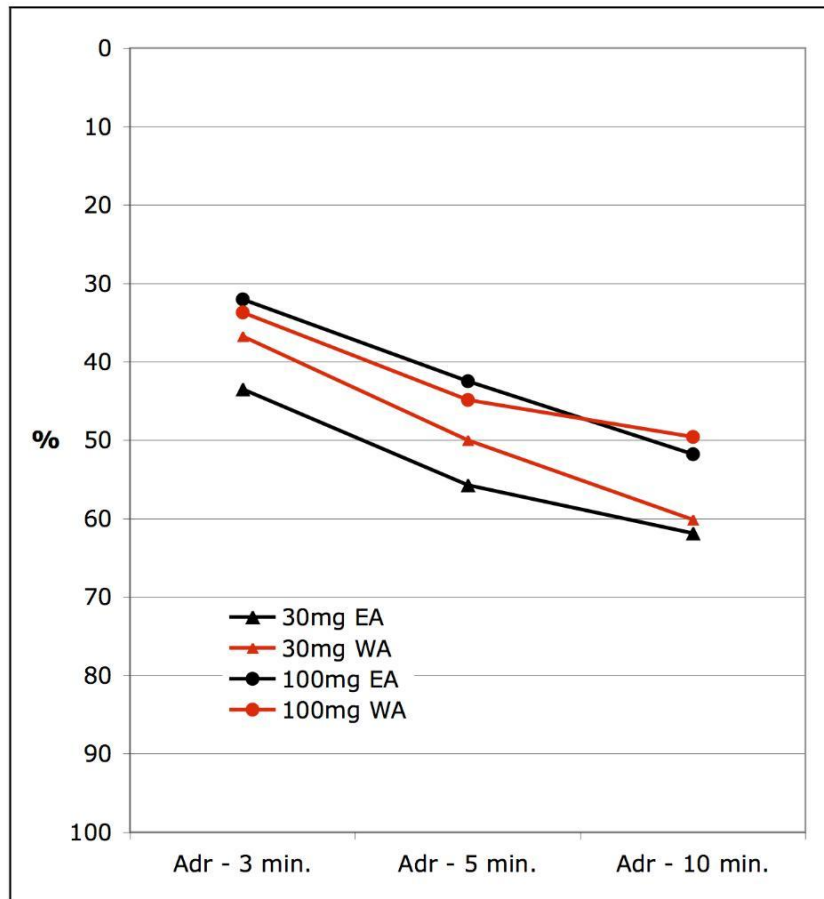


Abbildung 29: Adrenalin-induzierte Aggregation der Patienten der 30 mg und 100 mg ASS-Gruppen bei Erstaufnahme (EA) und Wiederaufnahme (WA) nach zwei bis 35 Monaten. Dargestellt ist die nach 3, 5 und 10 Minuten erreichte Amplitude der Aggregation (%).

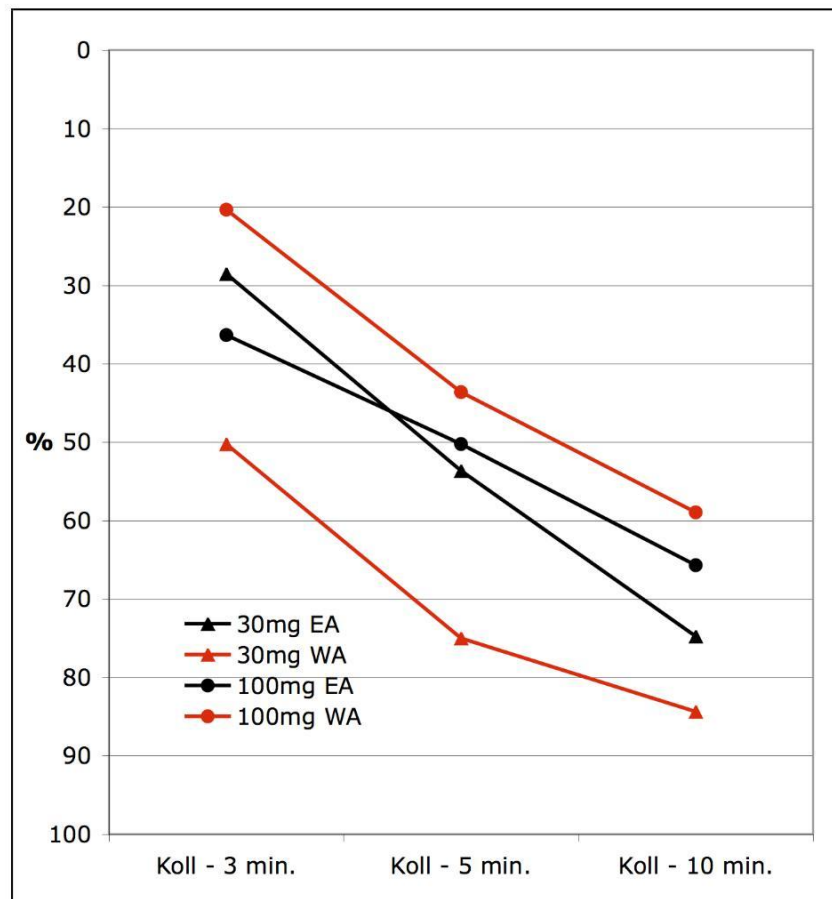


Abbildung 30: Kollagen-induzierte Aggregation der Patienten der 30 mg und 100 mg ASS-Gruppen bei Erstaufnahme (EA) und Wiederaufnahme (WA) nach zwei bis 35 Monaten. Dargestellt ist die nach 3, 5 und 10 Minuten erreichte Amplitude der Aggregation (%).

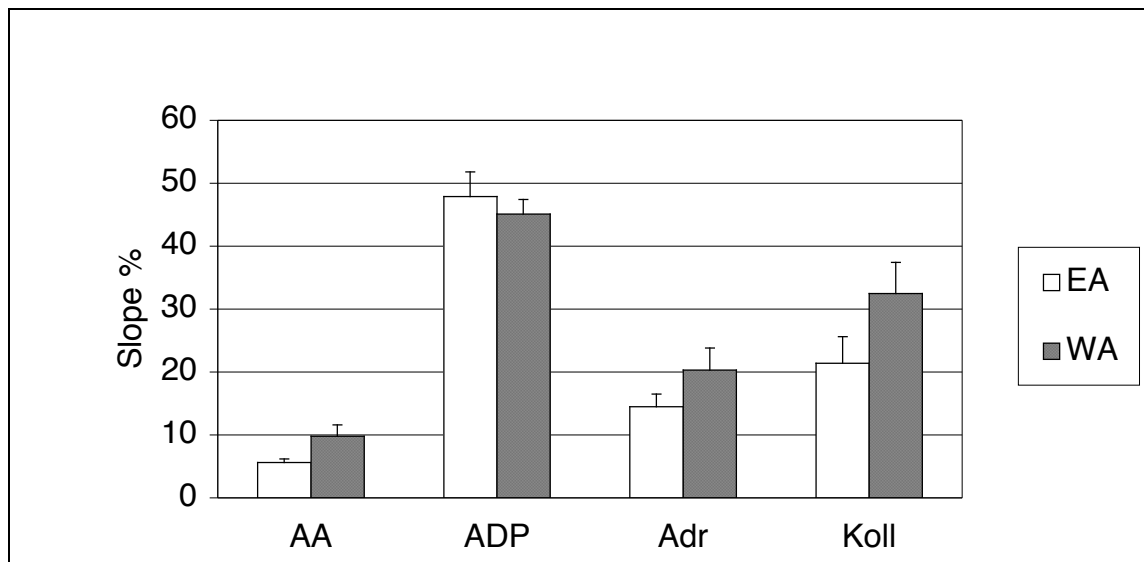


Abbildung 31: Slope der durch die verschiedenen Induktoren induzierte Aggregation der Patienten der 30 mg ASS-Gruppe bei Erstaufnahme (EA) und Wiederaufnahme (WA) nach zwei bis 35 Monaten. AA = Arachidonsäure, Adr = Adrenalin, Koll = Kollagen.

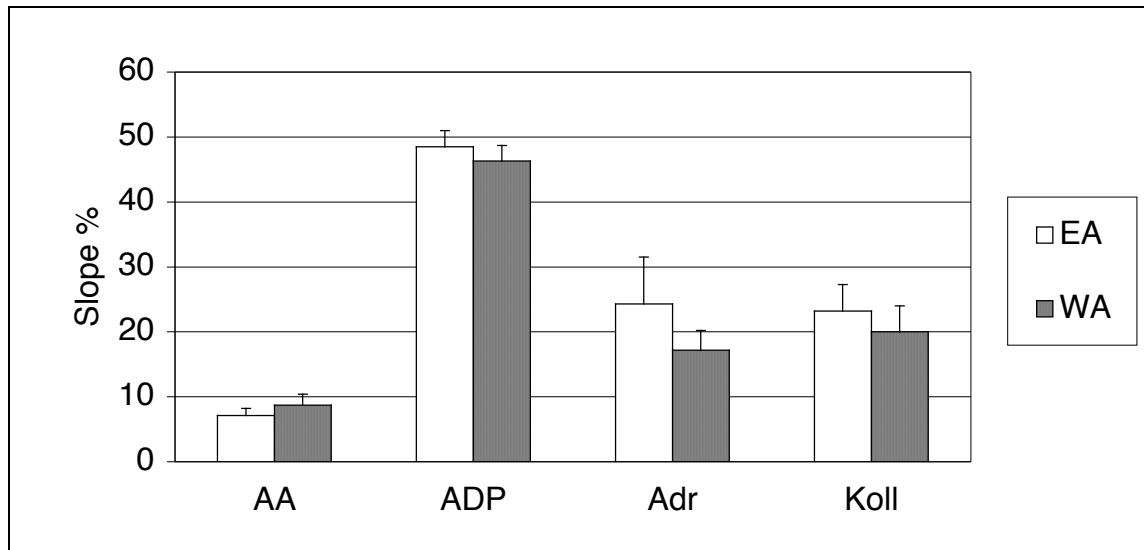


Abbildung 32: Slope der durch die verschiedenen Induktoren induzierte Aggregation der Patienten der 100 mg ASS-Gruppe bei Erstaufnahme (EA) und Wiederaufnahme (WA) nach zwei bis 35 Monaten. AA = Arachidonsäure, Adr = Adrenalin, Koll = Kollagen.

Bei zwei Patienten aus der 100mg ASS–Gruppe zeigte sich bei der zweiten Messung eine unzureichend gehemmte Aggregation. Nach kontrollierter Einnahme von 100 mg ASS/d über eine Woche, war die Aggregation jedoch wieder ausreichend gehemmt. Der Verdacht auf ungenügenden Compliance der Medikamenteneinnahme wurde letztlich auch durch die Patienten bestätigt.

5. Diskussion

Bereits in vielen klinischen Studien wurde die Wirksamkeit von ASS zur Prophylaxe okklusiver Ereignisse wie Schlaganfall oder Myokardinfarkt statistisch signifikant erwiesen (Physicians' Health Study Group 1989; Silagy et al. 1991; ISIS 2 Collaborative Group 1988; International Stroke Trial 1997; Chinese acute stroke trial 1997, Antithrombotic Trialists Collaboration 2002, Diener und Ringleb 2002).

Auch in Metaanalysen konnte dies belegt werden (Antiplatelet Trialists' Collaboration 1994), sofern es sich nicht um ein chronisches Vorhofflimmern handelte (Petersen et al. 1989; EAFT Study Group 1993; Cowburn und Cleland 1996).

Nach wie vor unklar ist jedoch die zu wählende Dosishöhe zur effektiven Thrombozytenaggregationshemmung. In den bisherigen Arbeiten wurden verschiedene ASS-Dosierungen vorgegeben und über einen definierten Zeitraum das Eintreten eines Ereignisses oder dessen Ausbleiben registriert. Die Dosishöhe war somit durch das Studiendesign vorgegeben.

Jedes Individuum reagiert verschieden auf Medikamenten. Je nach erreichter Wirkung dosiert man das Medikament höher oder niedriger. Bei insuffizienter Thrombozytenaggregationshemmung würde erst nach Eintritt eines okklusiven Ereignisses die Wirkungslosigkeit der Dosis in Erscheinung treten, weshalb hier eine ausreichend effektive Dosierung zur Prävention umso wichtiger ist.

Die derzeit vorliegenden Studien ergeben eine kardioprotektive ASS-Dosishöhe von 75–160mg/d. Zur Verhinderung cerebrovaskulärer Ereignisse werden hingegen größtenteils höhere ASS-Dosen von 325mg/d postuliert (O'Connor et al. 1996; Hansson et al. 1998; Koenig et al. 1996; Wallentin LC and the RISC Group 1991; SALT Collaborative Group 1991).

In der Dutch TIA Trial Study wurde bei dem Vergleich von 30mg ASS/d zu 283mg ASS/d eine nahezu gleich hohe Reinsultrate registriert mit dem Vorteil einer deutlich geringeren Nebenwirkungsrate bei der niedrigeren ASS-Dosis (Dutch TIA Trial study group 1991).

Ebenso zeigte die Swedish aspirin low-dose trial eine signifikante Risikoreduktion eines erneuten cerebrovaskulären Ereignisses bereits bei 75mg ASS/d (Swedish aspirin low-dose trial 1991).

In einer Meta-Analyse von Johnson et al. über 11 placebokontrollierte, randomisierte Studien mit 5228 Patienten, die ASS erhalten haben und 4401 Placebo-Patienten wurde eine Meta-Regression des jeweiligen relativen Risikos durchgeführt. Ebenso wurde eine Regression durchgeführt, um die Risikoreduktion pro mg ASS statistisch zu ermitteln. Es konnte gezeigt werden, daß die Dosis-Wirkungskurve über einen Dosisbereich von 50 bis 1500mg ASS/d nahezu gleich ist ($p=0,45$) und das Risiko eines Reinsultes über diese weite Dosisspanne gleichbleibend um nahezu 15% senkt (Johnson et al. 1999). Da sich bezüglich einer dosisabhängigen Nebenwirkungszunahme kein einheitliches Bild ergab, gingen die Autoren davon aus, eine niedrigstmögliche ASS-Dosierung zu wählen, da bei o.g. dosisunabhängigen Risikominderung kein größerer Nutzen von einer höheren ASS-Dosis zu erwarten wäre. Ebenso konnte Patrono keinen Zusammenhang zwischen ASS-Dosis und Reduktion von Schlaganfällen und anderen vaskulären Endpunkten feststellen (Patrono et al. 1998).

Es ist bis jetzt jedoch keine Studie bekannt, bei welcher mittels eines Laborparameters die individuell effektive ASS-Dosis ermittelt wurde.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war der Versuch eine Meßmethode nachzuweisen, die zur Ermittlung der individuellen, effektiven ASS-Dosis zur nahezu vollständigen Hemmung der Thrombozytenaggregation verwendet werden kann.

Die verwendete Methode der Thrombozytenaggregation nach Born (Born 1962) zeigte nach oben beschriebener Vorgehensweise eine regelrechte Aggregation bei

allen unbehandelten Patienten als Ausgangswert. Danach wurde mit der niedrigstmöglichen ASS-Dosis über eine Woche begonnen. Die danach durchgeführte Aggregometrie ergab bei der AA-induzierten Aggregation eine signifikant verminderte Thrombozytenaggregation in 40% der Fälle. Somit waren diese Patienten bereits nach der Medikation von 30mg ASS pro Tag über 7 Tage effektiv gehemmt.

Die Patienten, bei denen die Thrombozytenaggregation noch nicht ausreichend gehemmt war, erhielten nun über eine weitere Woche 100mg ASS pro Tag. Danach waren weitere 50% der Patienten effektiv gehemmt. Die restlichen Patienten erhielten eine weitere ASS-Dosissteigerung (300mg) über eine Woche. Hiernach war bei diesen Patienten ebenfalls die Arachidonsäure-induzierte Aggregometrie effektiv gehemmt. Nur ein Patient benötigte eine Dosis von 500mg ASS pro Tag, um effektiv gehemmt zu sein.

Somit kann die Arachidonsäure-induzierte Aggregometrie nach Born als in-vitro-Methode für eine Thrombozytenaggregationshemmung mittels ASS verwendet werden. Sie kann für jeden einzelnen Patienten nach individueller ASS-Dosierung bestimmt werden. Hierbei zeigte sich, daß der Slope als Marker für eine effektive Thrombozytenaggregationshemmung verwendet werden kann. Alle übrigen in dieser Studie registrierten Laborwerte hatten auf die Thrombozytenaggregometrie vor ASS-Behandlung keinerlei Einfluß.

Die anderen Induktoren wie Kollagen, Adrenalin und ADP zeigten eine nur geringe Reduktion der Thrombozytenaggregation, so daß diese als Kontrollparameter weniger geeignet sind. Taylor, Ridker, Klamroth, Mahnel und Gurbel beschrieben ebenfalls die AA-induzierte Aggregometrie als sensibelsten Parameter (Taylor et al. 1992, Ridker et al. 1996, Klamroth et al. 2006, Mahnel et al. 2006, Gurbel et al. 2007).

Mammen verglich in einer Studie verschiedene Thrombozytenfunktionsmeßverfahren miteinander. Es zeigte sich, daß in Bezug auf die Thrombozytenfunktion das PFA-Meßverfahren eine 94,9%ige Sensivität und eine 88,8%ige Spezifität, die Aggregometrie eine 94,3%ige Sensivität und eine 88,3%ige Spezifität hatte. Bezüglich der

Identifikation von Patienten die ASS einnahmen, zeigte allein die AA-induzierte Aggregation eine 100%ige Sensitivität (PFA 94,5%) (Mammen et al. 1998).

In weiteren Studien müßte z.B. bei gleichbleibender Dosis von 100mg ASS/d das Outcome von Patienten über einen längeren Zeitraum beobachtet werden, wobei 100mg ASS/d die in Deutschland übliche Dosis zur antiaggregatorischen Dauertherapie ist.

Beim Vergleich der Verteilung von Diabetikern und Nichtdiabetikern ergab sich zwischen den einzelnen Dosisgruppen keine signifikante Differenz. Lediglich bei der Thrombozytenzahl wiesen Diabetiker tendenziell niedrigere Werte auf. Eine reduzierte Sensitivität der Thrombozyten von Diabetikern auf ASS, wie in der Literatur beschrieben (Watala et al. 2004), konnte nicht festgestellt werden. Dies könnte möglicherweise an der unter klinischen Bedingungen optimierten metabolischen Stoffwechsellaage liegen, da dies als deutlicher Einfluß auf die Thrombozytensensitivität auf ASS beschrieben wird.

In keinem Fall konnte in der vorliegenden Arbeit ein sogenannter non-responder nachgewiesen werden wie in anderen Studien beschrieben (Helgason et al. 1994, Gum et al. 2001, Sane et al. 2002). Alle Patienten reagierten nach schrittweiser, aggregationskontrollierter Dosissteigerung von ASS mit einer effektiven Arachidonsäure-induzierten Thrombozytenaggregationshemmung. Ob dies an der Fallzahl oder einer anderen Vorgehensweise der Thrombozytenaggregationsmessung liegt, wäre noch zu prüfen. Hinzu kommt die fehlende einheitliche und anerkannte Definition eines ASS-non-responders bzw. einer sogenannten Aspirinresistenz, so daß in verschiedenen Studien unterschiedliche Meßverfahren und Schwellenwerte verwendet werden und somit nicht direkt vergleichbar sind (Howard 2002, Gurbel et al. 2007, Krasopoulos et al. 2008).

Weber et al. unterteilen die ASS-Resistenz anhand der Kollagen-induzierten Aggregation und der thrombozytären TXA₂-Synthese in drei verschiedene Typen. Typ I-Resistenz oder pharmakokinetischer Typ liegt vor, wenn die Einnahme von ASS

weder Thromboxan noch die Kollagen-induzierte Aggregometrie hemmt, durch in vitro Zugabe von ASS beides jedoch gehemmt wird. Typ II–Resistenz oder pharmakodynamischer Typ liegt vor, wenn weder orale ASS–Einnahme noch in vitro Zugabe zu einer Thromboxansynthesehemmung oder Kollagen-induzierten Aggregationshemmung führt. Typ III–Resistenz beschreibt die Thromboxanhemmung durch orale ASS–Einnahme, jedoch nahezu unbeeinflusste Kollagen-induzierte Aggregometrie, selbst wenn ASS in vitro hinzugefügt wird (Weber et al. 1999/2002). Er konnte jedoch auf Thrombozyten neben der COX–1 auch die Isoform COX–2 nachweisen (Weber et al. 2002). Geht man davon aus, daß es einer 90%igen Thromboxanhemmung bedarf um eine Aggregationshemmung zu erreichen (FitzGerald et al. 1985), würde eine geringe COX–2–Aktivität bereits ausreichen um die antiaggregatorische Wirkung von ASS abzuschwächen (Hohlfeld und Schrör 1998). Gaetano stellt die verschiedenen Einflussgrößen dar, welche dazu führen könnten, daß es unter einer ASS–Therapie zu einem okklusiven Ereignis kommt (De Gaetano und Cerletti 2003). Er spricht sich deshalb nicht nur für eine kombinierte Erfassung von Thrombozytenfunktionstests und biochemischer Tests aus, sondern fordert zusätzliche Studien über die Vorhersagbarkeit eines möglichen Ereignisses bezüglich erfaßter Daten. Patrono sieht dementsprechend in einem Patienten, welcher unter ASS ein vaskuläres Ereignis erleidet eher einen Therapieversager als eine eigentliche ASS–Resistenz (Patrono et al. 2004).

Ein offensichtliches Problem besteht in der Beziehung zwischen einem in vitro Test und dessen klinischer Relevanz. Cattaneo postuliert, eine mögliche ASS– oder Clopidogrelresistenz nicht durch Thrombozytenfunktionstests zu prüfen, da eine nicht nachgewiesene Aggregationshemmung nur zu einer kostenintensiven Umstellung des Patienten führen würde, ohne daß ein erwiesenes schlechteres klinisches Outcome demonstriert werden kann (Cattaneo 2004, 2007). In weiteren Studien würde zu prüfen sein, inwiefern zur Prävention okklusiver Ereignisse eine suffiziente Aggregationshemmung der Thrombozyten überhaupt ausreicht. Es ist davon auszugehen, daß noch andere Faktoren wie zum Beispiel instabile Intimaplaques oder Gefäßwandspasmen als Ursache okklusiver Ereignisse in Frage kommen, die mit dieser Meßmethode nicht erfaßt werden. Bei den in unserer Studie erfaßten Nach-

untersuchungen (n=24) mit erneuter Aggregationsmessung kam es trotz effektiver Thrombozytenaggregationshemmung zu okklusiven Ereignissen (n=3, 12,5%), was somit für eine nicht nur thrombozytenbedingte Ursache spricht. Hier läßt sich anhand der geringen Fallzahl der Wiederaufnahmen keine weiterführende statistische Aussage machen. Jedoch läßt es den Schluß zu, daß eine Aggregationshemmung alleine nicht ausreicht, um ein vaskuläres Ereignis zu verhindern. In einer Metaanalyse von Krasopoulos et al. konnte gezeigt werden, daß unabhängig von der Nachweismethode einer sogenannten Aspirinresistenz das Risiko an einem kardio-cerebrovaskulärem Ereignis zu Erkranken bei den Non-Respondern um das Vierfache erhöht ist. Die Autoren befürworten, daß die sogenannte Aspirinresistenz bis zum besseren Verständnis der eigentlichen Ursache des Therapieversagens von ASS zur Hemmung der Thrombozytenaggregation als Aspirin-non-responder beschrieben werden sollte (Krasopoulos et al. 2008).

Bislang sind mögliche Ursachen einer ASS-Resistenz oder einer nicht ausreichenden Hemmung der Thrombozytenfunktion unklar. Ein nicht unwesentlicherer Gesichtspunkt liegt in den gewählten Testverfahren, mit denen die Hemmung der COX-1 und/oder der Thrombozytenfunktion bestimmt wird (Gurbel et al. 2007, Pulcinelli et al. 2005). In einer 2008 erschienen Publikation berichteten Frelinger et al. über eine fehlende oder nur sehr schwache Korrelation zwischen verschiedenen Methoden, die zum Nachweis einer ASS-Wirkung auf Thrombozyten verwendet wurden, d.h. TxB₂-Konzentration im Serum, 11-Dehydro-TxB₂-Ausscheidung im Urin, Arachidonsäure- und ADP-induzierte Aggregation, VerifyNow Aspirin (einem der Aggregationsmessung im Vollblut entsprechenden Verfahren) und TEG Platelet Mapping (einem auf der Thrombelastometrie basierenden Verfahren) (Frelinger et al. 2008). Diese Autoren beobachteten bei den von ihnen untersuchten Patienten signifikante Korrelation zwischen der Thrombozytenreaktivität vor und nach Medikation mit ASS. Sie schlussfolgerten daraus, daß eine unzureichende Hemmung der Thrombozyten durch ASS vor allem durch hohe Thrombozytenreaktivität, die vor und auch nach ASS-Medikation bestehe, bedingt sei (Frelinger et al. 2008). Bei unseren Patienten konnten solche Korrelationen nicht beobachtet werden. Es gab auch keine signifikanten Unterschiede in der Thrombozytenaggregation vor ASS-Gabe bei Patienten

mit und ohne ausreichende Hemmung durch 30 mg/d ASS. Diese Beobachtungen sind demnach in Widerspruch zu der Hypothese von Frelinger et al. (2008).

Ein Schwerpunkt der hier vorgestellten Studie war es zu prüfen, ob bestimmte Begleiterkrankungen oder Medikamente oder Rauchen für eine unzureichende Hemmung der Thrombozytenaggregation durch ASS verantwortlich sein könnten. Als Begleiterkrankungen und/oder klinische Begleitbefunde hatten weder das Vorliegen eines Diabetes mellitus, noch Störungen der Plasmalipide oder eine Übergewichtigkeit gemessen als BMI einen signifikanten Einfluss auf die Effektivität der Hemmung der Thrombozytenaggregation durch ASS. Die verschiedenen ASS-Gruppen (ASS-Dosis für effektive Hemmung der Arachidonsäure-induzierten Aggregation) unterschieden sich auch nicht hinsichtlich häufig angewendeter Medikamente wie NO-freisetzende Substanzen, Heparin, ACE-Hemmer, Betablocker oder Ca-Antagonisten. Auch war die Anzahl der Raucher und Nichtraucher in den jeweiligen ASS-Gruppen gleich.

In der vorliegenden Studie sollte auch die Frage beantwortet werden, inwieweit die individuelle Empfindlichkeit der Thrombozyten auf ASS konstant bleibt. Bei 24 Patienten konnten nach einem Zeitraum bis zu mehreren Wochen nach Einstellung auf eine optimale ASS-Dosis die Hemmung der Thrombozytenaggregation erneut getestet werden. Nur bei zwei Patienten war keine ausreichende Hemmung mehr nachweisbar, was jedoch eindeutig auf eine fehlende ASS-Einnahme zurückgeführt werden konnte. Es scheint damit, zumindest für den erfassten Zeitraum, keine Desensibilisierung der Thrombozyten gegenüber ASS aufzutreten (Chetty et al. 1985, Berglund und Wallentin 1991).

Obwohl in der vorliegenden Studie keine Hinweise auf eine ASS-Resistenz erhalten wurden, bleibt die Frage offen, inwieweit ASS-Dosierungen von 300 mg/d und mehr über einen langen Zeitraum ohne Nebenwirkungen von den Patienten toleriert werden können. Gegebenenfalls müsste dann doch eine Umstellung auf einen anderen Thrombozytenfunktionshemmer vorgenommen werden. Im Folgenden wird eine Übersicht über andere Substanzen sowie deren Vor- und Nachteile gegeben.

Thienopyridine:

Ticlopidin blockiert den ADP–Rezeptor auf Thrombozyten und verhindert dadurch eine Kaskade, die in einer Aktivierung des Glykoproteinrezeptors IIb/IIIa resultiert, was zu einer Bindung von Fibrinogen an Thrombozyten und nachfolgend zu einer Thrombozytenaggregation führt. Es hat aber neben den höheren Tagestherapiekosten auch den Nachteil, eine Neutropenie, Durchfall oder Hautausschlag auslösen zu können (Easton et al. 1999). In der TASS Studie wurde eine relative Risikoreduktion des primären Endpunktes Schlaganfall von 21% zugunsten Ticlopidin nachgewiesen, jedoch auch eine deutlich höhere Nebenwirkungsrate (Hass et al. 1989). Für den kombinierten Endpunkt Schlaganfall, Myokardinfarkt und vaskulärem Tod betrug die relative Risikoreduktion 9% und war nicht signifikant. Außerdem muß davon ausgegangen werden, daß bei der verwendeten ASS–Dosis (2x650mg ASS/d) die vaskuläre Prostacyclinbildung bereits gehemmt ist und somit nicht der vollständig antiaggregatorische Effekt ausgenutzt wurde.

Clopidogrel als Nachfolgesubstanz von Ticlopidin ist bei einer Einmalgabe von 75mg/d genauso wirksam wie Ticlopidin bei einer Dosierung von 2x250mg/d. In einer großangelegten Studie von 1996 wurde die Wirksamkeit von Clopidogrel und ASS (325mg/d) in verschiedenen Subgruppen verglichen. Es wurde eine nichtsignifikante Reduktion des relativen Risikos eines erneuten Schlaganfalles um 7,3% festgestellt ($p=0,26$). Jedoch ergab sich eine deutliche Reduktion des relativen Risikos der Progredienz einer pAVK um 23,8% ($p=0,0028$). Hingegen zeigte sich ein größerer, wenngleich nichtsignifikanter Benefit zugunsten ASS zur rel. Risikoreduktion im Hinblick auf einen erneuten Myokardinfarkt ($-3,7\%$; $p=0,66$). Weiterhin konnte kein erhöhtes Risiko für eine Leukopenie unter Clopidogrel festgestellt werden. Die Nebenwirkungen bzgl. Hautausschlag und Durchfälle waren jedoch signifikant erhöht. Unter ASS ergab sich hingegen ein signifikant erhöhtes Risiko für gastrointestinale Blutungen (CAPRIE 1996). Somit wird eine Therapie mit Clopidogrel empfohlen, wenn zur Sekundärprävention bei Schlaganfallpatienten eine Acetylsalicylsäureunverträglichkeit oder eine pAVK vorliegt (Diener et al. 2002). Gorelick stellt in einer Arbeit den geringen Vorteil von Clopidogrel den resultierenden hohen Kosten gegenüber und verlangt weitere, unabhängige Studien (Gorelick et al. 1999). Die Daten der MATCH–

Studie zeigen in den ersten 18 Behandlungsmonaten einer Kombinationstherapie mittels Clopidogrel und ASS von Schlaganfall- und TIA Patienten keinen Vorteil gegenüber einer alleinigen ASS-Therapie hinsichtlich eines erneuten ischämischen Ereignisses. Es kam jedoch signifikant häufiger zu lebensbedrohlichen Blutungen (2,6% vs. 1,3%, $p < 0,001$) (Diener et al. 2004). In einem Begleitkommentar erklärt Peter Rothwell von der University of Oxford: "Zusammenfassend hat die MATCH-Studie (Management of Atherothrombosis with Clopidogrel in High-risk patients with recent TIA or ischemic stroke) gezeigt, daß im Vergleich zur Clopidogrel-Monotherapie das Risiko größerer Blutungen durch die Kombination mit Aspirin nach 18 Monaten alle Vorteile zunichte macht. Patienten mit vorausgegangener TIA oder Schlaganfall, die im Moment Aspirin und Clopidogrel einnehmen, sollten über das Risiko aufgeklärt werden."

In der CURE Studie (Clopidogrel in Unstable Angina to prevent Recurrent Events 2001) konnte gezeigt werden, daß bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom ohne ST-Hebung im EKG ein deutlicher Benefit einer Kombinationstherapie von ASS (75-325mg/d) mit Clopidogrel (300mg Sofortgabe, dann 75mg/d) im Vergleich zu ASS mit Placebo zu verzeichnen war. Nach einem durchschnittlichen Behandlungszeitraum von 9 Monaten wurde ein Primäreignis (kardiovaskulärer Tod, nichttödlicher Herzinfarkt oder Schlaganfall) bei 9,3% der Patienten in der Clopidogrelgruppe und bei 11,4% in der Placebogruppe verzeichnet ($p < 0,001$). Auch das Blutungsrisiko war in der Clopidogrelgruppe signifikant erhöht (3,7% vs. 2,7% Placebo, $p = 0,001$). In einer Subgruppenanalyse von Peters zeigte sich ein deutlicher dosisabhängiger Effekt bezüglich zusätzlich verabreichten ASS und Blutungsrisiko (Peters et al. 2003). Albers betont jedoch, daß Patienten nur bezüglich der kardiovaskulären Ereignisse von einer Kombinationstherapie profitieren würden, die Daten der CURE Studie belegen keinen Benefit bezüglich der Schlaganfallsprophylaxe (Albers und Amarengo 2001).

Auch in der CHARISMA Studie (Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance) zeigte sich, daß Clopidogrel in einer Kombinationstherapie mit ASS keine signifikante Reduktion von Herzinfarkten, Schlaganfällen oder Tod durch kardiovaskuläre Ursachen gegenüber ASS als

Monotherapie erbringt (Bhatt et al. 2006). Die o.g. primären Endpunkte unterschieden sich ebensowenig signifikant wie die Rate schwerer Blutungskomplikationen. Auch die Subgruppenanalyse der Patienten mit multiplen Risikofaktoren erbrachte keinen signifikanten Unterschied (6,6% relatives Risiko Clopidogrel plus ASS gegenüber 5,5% relatives Risiko ASS plus Placebo ; $p=0,2$).

Dipyridamol ist ein Thrombozytenaggregationshemmer, der die Thrombozytenphosphodiesterase behindert, welche für den Abbau zyklischen AMPs verantwortlich ist. Die daraus resultierende Erhöhung des zyklischen AMPs behindert die Aggregation von Thrombozyten (Alheid et al. 1989). Dipyridamol ist nicht effektiver als ASS und es gibt laut Easton keinen Beweis eines zusätzlichen thrombozytenhemmenden Nutzens bei zusätzlicher Gabe von ASS (Easton et al. 1999). In einer Studie von Mulder konnte hingegen eine niedrigere postoperative Verschlußrate bei aortokoronarem Bypass unter der Kombinationstherapie von Dipyridamol (200mg/d) und ASS (50mg/d) verzeichnet werden. Auffällig war außerdem, daß in 20,3% der Kombinationstherapiefälle klinische Ereignisse auftraten, bei den ASS-Monotherapiepatienten hingegen nur 13,9% (Mulder et al. 1994). In der Europäischen Schlaganfallstudie konnte erstmals eine positive Wirkung einer Kombinationstherapie von Dipyridamol (2x200mg) und ASS (2x25mg) gegenüber ASS (2x25mg) als Monotherapie nach Schlaganfall festgestellt werden. Ein Benefit nach kardiovaskulären Ereignissen ergab sich jedoch nicht (Diener et al. 1996). Dipyridamol zeigte sich bezüglich der Schlaganfallrate (13,2%) gegenüber ASS (12,9%) nicht überlegen. Die Kombinationstherapie lag mit 9,9% deutlich unter den Monotherapie-Rezidivschlaganfallwerten. Eine Reduktion der Letalität konnte nicht nachgewiesen werden. Jedoch lag die Abbruchrate aufgrund von Nebenwirkungen deutlich höher (Diener et al. ESPS II 1997).

Während ASS, Ticlopidin oder Clopidogrel die ADP- oder Thromboxan-vermittelte Thrombozytenaggregation beeinflussen, werden andere Stimuli der Aggregation wie z.B. Thrombin nicht berücksichtigt. Die GP IIb/IIIa-Antagonisten setzen am gemeinsamen Endpunkt der Thrombozytenaggregation an, unabhängig vom auslösenden Stimulus. Sie bestehen aus einem monoklonalen Antikörper, welcher an dem akti-

vierten Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb/IIIa) auf der Plättchenoberfläche bindet. Bei einer 50%igen Bindung an den GPIIb/IIIa–Rezeptoren findet bereits eine Inhibition der Thrombozytenaggregation statt, bei einer Rezeptorbindung von 80% ist die Thrombozytenaggregation nahezu komplett blockiert, ohne daß die Blutungszeit beeinflusst ist. Bei über 90%iger Belegung der Rezeptoren kommt es hingegen schon zu einer massiven Blutungszeitverlängerung (Coller 1997). Bisher durchgeführte Studien mittels intravenöser Medikation ergaben sehr gute Ergebnisse und führten zur Entwicklung oraler GP IIb/IIIa–Antagonisten zur Langzeittherapie. In einer Metaanalyse über vier Studien war die orale Medikation von Xemilofiban, Orbofiban, Sibrafiban oder Lotrafiban nicht effektiver als ASS. In Kombination mit ASS gab es gegenüber Placebo keine Überlegenheit, und es zeigte sich eine Zunahme der Mortalität (Chew et al. 2001). Eine Möglichkeit für den mangelnden Benefit wäre die schwache orale Bioverfügbarkeit, was jedoch den Anstieg der Mortalität nicht erklären würde. Die derzeitige Studienlage läßt die oralen GP IIb/IIIa–Antagonisten nicht als Alternative zu den anderen oben genannten Thrombozytenaggregationshemmern zu (Patrono et al. 2004).

Für die niedrigstmögliche, effektive ASS–Dosis sprechen nachgewiesenermaßen geringere Effekte auf die vaskuläre Prostacyclinproduktion, welche erst bei höheren ASS–Dosen gehemmt wird (Clarke et al. 1991, Weksler et al. 1983). Die thrombozytäre Thromboxanhemmung wird hingegen schon bei geringen ASS–Dosen gehemmt (Davi et al. 1983; Muzii et al. 1998; Sinzinger et al. 1995). Somit könnte von einer optimalen Therapie ausgegangen werden, welche fast komplett die Thrombozytencyklooxygenase blockiert bei nahezu vollständig erhaltenem vaskulären Enzym (Patrignani et al. 1982). Außerdem tritt eine niedrigere Nebenwirkungsrate, vor allem der gastrointestinalen Blutungen bei niedrigeren ASS–Dosen auf (Silagy et al. 1993, Rodriguez et al. 2001, CURE 2001, Peters et al. 2003). Dies würde ebenfalls die Compliance bei Dauereinnahme gewährleisten. Desweiteren konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden, daß ab einer gewissen Dosishöhe trotz Dosissteigerung keine Steigerung des klinischen Nutzens erzielt werden konnte (Antithrombotic Trialists Collaboration). Es wurde lediglich eine Zunahme der Nebenwirkungsrate verzeichnet, was wiederum für eine niedrigstmögliche Dosierung

sprechen würde (UK–TIA Study Group 1991; Slattery et al. 1995, Peters et al. 2003).

Anhand der vorliegenden Daten ist davon auszugehen, daß die Arachidonsäure–induzierte Thrombozytenaggregometrie zur Ermittlung der niedrigstmöglichen ASS–Dosierung zur effektiven Aggregationshemmung im klinischen Alltag verwendet werden kann. Bei der in Deutschland häufig verwendeten Dosis von 100mg ASS/d gibt es zumindest 10% der Patienten, deren Thrombozytenaggregation mit der verwendeten Methodik nicht vollständig gehemmt ist.

Andere Induktoren wie Kollagen, ADP oder Adrenalin zeigten keinerlei Vorteile gegenüber Arachidonsäure (Mammen et al. 1998). Eine Aggregationshemmung von mindestens 70% – eine Aggregation von unter 30% – und ein Slope von unter 10 sind als geeignete Parameter zur Kontrolle einer effektiven ASS–Therapie anzusehen.

6. Literatur

Albers GW, Amarenco P (2001):

Combination Therapy with Clopidogrel and Aspirin – can the CURE results be extrapolated to cerebrovascular patients?

Stroke; 32: 2948-2949

Alheid U, Reichwehr I, Foerstermann U (1989):

Human endothelial cells inhibit platelet aggregation by separately stimulating platelet cyclic AMP and cyclic GMP.

Eur J Pharmacol 164: 103-110

Antiplatelet Trialists' Collaboration (1994):

Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy- I.

BMJ 308 (6921): 81-106

Antiplatelet Trialists' Collaboration (1994):

Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy-II.

BMJ 308 (6922): 159-168

Antithrombotic Trialists' Collaboration (2002):

Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients.

BMJ 324: 71-86

Bhatt DL, Fox KAA, Hacke W et al. for the CHARISMA Investigators (2006):

Clopidogrel and Aspirin versus Aspirin Alone for the Prevention of Atherothrombotic Events.

New Engl J Med 354: 1706-1717

Berglund U, Wallentin L (1991):

Persistent inhibition of platelet function during long- term treatment with 75mg acetylsalicylic acid daily in men with unstable coronary disease.

Eur Heart J 12: 428-433

Bick RL (1992):

Platelet function defects: A clinical review.

Sem Thromb Hemost 18 (2): 167-183.

Born GVR (1962):

Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal.

Nature 194: 927

Breddin HK (2000):

Klinische Bedeutung von Thrombozytenfunktionshemmern.

Hämostaseologie 20: 178-184

Burke J, Kraft WK, Greenberg HE, Gleave M, Pitari GM, VanBuren S, Wagner JA,

Waldmann SA (2003):

Relationship of arachidonic acid concentration to cyclooxygenase-dependent human platelet aggregation.

J Clin Pharmacol 43: 983-989

Bye A, Lewis Y, O' Grady J (1979):

Effects of a single oral dose of aspirin on the platelet aggregation response on arachidonic acid.

Br J Clin Pharmacol 7: 283

Cairns JA, Gent M, Singer J (1985):

Aspirin, sulfinpyrazone or both in unstable angina. Results of a Canadian Multi-center Trial.

New Engl J Med 313: 1369

CAPRIE Steering Committee (1996):

randomised, blinded, trial of clopidotrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events.

Lancet; 348 : 1329 -1339

CAPTURE investigators (1997):

Randomised placebo- controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina: the CAPTURE study.

Lancet; 349: 1429-1435

Cattaneo M (2004):

Aspirin and Clopidogrel – Efficacy, Safety, and the issue of drug resistance. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular biology; 24: 1980

Cattaneo M (2007):

Resistance to antiplatelet drugs: molecular mechanisms and laboratory detection.

J Thromb Haemost 5 (Suppl 1): 230-237

Chetty N, Atkinson PM, Bradlow BA (1985):

Long- term ultra- low- dose aspirin therapy and platelet function.

S Afr Med J 68 (5): 307-309

Chew DP, Bhatt DL, Sapp S, Topol EJ (2001):

Increased mortality with oral platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists: a meta-analysis of phase III multicenter randomized trials.

Circulation; 103: 201-206

Chinese acute stroke trial (CAST) (1997):

Lancet 349 : 1641-1649

Clarke RJ, Mayo G, Price P, FitzGerald GA (1991):

Suppression of thromboxane A₂ but not of systemic prostacyclin by controlled-release aspirin.

N Engl J Med 16: 1137-1141

Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators (CURE) (2001):

Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation.

N Engl J Med; 345: 494-502

Coller BS (1997):

Platelet GPIIb/IIIa antagonists: the first anti-integrin receptor therapeutics.

J Clin Invest; 99: 1467-1471

Cowburn P, Cleland JGF (1996):

Stroke prevention in atrial fibrillation III study.

Eur Heart J 17: 1129

Cox D (1998):

Methods for monitoring platelet function.

Am Heart J; 135: 160-169

Craven LL (1950): Acetylsalicylic acid, possible prevention of coronary thrombosis.

Ann West Med Surg 4: 95

Davi G, Custro N, Novo S, Mattina A (1983):

Effect of low doses aspirin on whole blood thromboxane and prostacyclin generation.

Thromb Haemost 50 (3): 669-670

De Gaetano G, Cerletti C (2003):

Aspirin resistance: a revival of platelet aggregation tests?

J Thomb Haemost 1: 2048-2050

Diener HC, Cunha L, Forbes C, Sivenius J, Smets P, Lowenthal A (1996):

European Stroke Prevention Study 2. Dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke.

J Neurol Sci 143: 1-13

Diener HC, Forbes C, Rieckinene PF, Sivenius J, Smets P, Lowenthal A (1997):

European Stroke Prevention Study 2.

Efficacy and safety data. J Neurol Sci 151(Suppl.): 1-77

Diener HC, Ringleb P (2002):

Antithrombotic secondary prevention after stroke.

Curr Treat Options Cardiovasc Med 4 (5): 429-440

Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM, Cimminiello C, Csiba L, Kaste M, Leys D, Matias-Guiu J, Rupprecht HJ (2004):

Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial.

Lancet ; 364: 331

Dutch TIA Trial study group (1991):

Comparison of two doses of aspirin in patients after a TIA or minor ischemic stroke.

N Engl J Med 325 (18): 1261-1266

EAFT Study Group (1993):

Secondary prevention in non-rheumatic atrial fibrillation after TIA or minor stroke.

Lancet 342 : 1255-1262

- Easton JD, Hauser SL., Martin JB (1999):
Zerebrovaskuläre Erkrankungen.
Harrisons Innere Medizin, Kap. 366: 2750
- Eichelberger JW (1984):
Kinetik measurement of platelet aggregation.
Hatboro, PA: Bio/Data Corp
- FitzGerald GA, Oates JA, Hawiger JA, Maas RL, Roberts LJ et al. (1983): Endogenous biosynthesis of prostacyclin and thromboxane and platelet function during chronic administration of aspirin in man.
J Clin Invest 71: 676
- FitzGerald GA, Reilly IA, Pedersen AK (1985):
The biochemical pharmacology of thromboxane synthase inhibition in man.
Circulation 72 (6): 1194-11201
- Frelinger AL, Li Y, Linden MD, Tarnow I, Barnard MR, Fox ML, Michelson AD (2008):
Aspirin "resistance": role of pre-existing platelet reactivity and correlation between tests.
J Thromb Haemost 6: 2035 – 2044
- George JN, Shattil SJ (1991):
The clinical importance of acquired abnormalities of platelet function.
N Engl J Med 324: 27-39
- Goldschmidt PJ, Lopes N, Crawford LE (2002):
Atherosclerosis and coronary artery disease. In: Platelets (Herausgeber Michelson AD).
Academic Press Elsevier Science; Chapter 26: 375-388
- Gorelick PF, Born GVR, D'Agostino RB, Hanley DF, Moye L, Pepine CJ (1999):
Therapeutic benefit- aspirin revisited in light of the introduction of clopidogrel.
Stroke ; 30: 1716-1721
- Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ (2001):
Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease.
Am J Cardiol 88(3): 230-235

- Gurbel PA, Becker RC, Mann KG, Steinhubl SR, Michelson AD (2007):
Platelet function monitoring in patients with coronary artery disease.
J Am Coll Cardiol 50: 1822-1834
- Gurbel PA, Bliden KP, DiChiara J (2007):
Evaluation of dose-related effects of aspirin on platelet function: results from the Aspirin-Induced Platelet Effect (ASPECT) study.
Circulation 115: 3156-3164
- Handin RI (1999):
Blutungen und Thrombosen – Normale Hämostase.
Harrisons Innere Medizin, 14. Auflage: 408-409
- Hansson L., Zanchetti A, Carruthers SG et al. for the HOT Study group (1998):
Effect of intensive blood pressure lowering and low- dose aspirin in patients with hypertension: principle results of the hypertension optimal treatment (HOT) randomised trial.
Lancet x; 351: 1755-1762
- Hass WK, Easton JD, Adams HP Jr et al. (1989):
Randomized trial comparing ticlopidine hydrochloride with aspirin for the prevention of stroke in high- risk patients.
N Engl J Med 321: 501-507
- Heavey DJ, Barrow SE, Hickling NE, Ritter JM (1985):
Aspirin causes short- lived inhibition of bradykinin- stimulated prostacyclin production in man.
Nature 318: 186
- Helgason CM, Bolin KM, Hoff, JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, Brace LD (1994):
Development of Aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke.
Stroke; 25: 2331-2336
- Hennekens CH, Buring JE, Sandercock P, Collins R, Peto R (1989):
Aspirin and other antiplatelet agents in the secondary and primary prevention of cardiovascular disease.
Circulation 80: 749

Hess H, Mietaschk A, Deichsel G (1985):

Drug- induced inhibition of platelet function delays progression of peripheral occlusive arterial disease.

Lancet 1: 41

Hiramatsu K, Nozaki H, Arimori S (1987):

Reduction of platelet aggregation induced by euglycaemic insulin clamp.

Diabetologia 30: 310

Hoffmann W, Förster W (1991):

Two Year Cottbus Reinfarction Study with 30mg Aspirin per day.

Prostagl Leukotr Essent Fatty Acids 44: 159

Hoffmann W, Nitschke M, Muche J, Kampe W, Förster W (1991):

Reevaluation of the Cottbus Reinfarction Study with 30mg Aspirin per day 4 years after the end of the study.

Prostagl Leukotr Essent. Fatty Acids 42: 137

Hohlfeld T, Schrör K (1998):

Acetylsalicylsäure und Thromboxaneinhibitoren.

Hämostaseologie 18: 156-200

Holmsen, H (1977):

Prostaglandin endoperoxid- thromboxan synthesis and dense granule secretion as positive feedback loops in the propagation for platelet responses during the “basic platelet reaction“.

Thromb Haemost 38: 1030

Howard PA (2002):

Aspirin resistance.

Ann Pharmacother. 36(10):1620-1624.

Husted SE, Kraemmer-Nielsen H, Krusell LR, Faergeman O (1989):

Acetylsalicylic acid 100mg and 1000mg daily in acute myocardial infarction suspects: a placebo- controlled trial.

J Int Med 226: 303

ISIS- 2 (1988):

Randomized trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17 187 cases of suspected acute myocardial infarction.

Lancet 2: 349

ISIS- 2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group;Baigent

C, Collins R, Appleby P, Parish S, Sleight P, Peto R, (1998):

BMJ 316 (7141): 1337-1343

International Stroke Trial (IST) (1997):

Lancet 349: 1569-1581

Johnson ES, Lanes SF, Wentworth CE, Satterfield MH, Abebe BL., Dicker LW

(1999):

A Metaregression Analysis of the dose- response effect of aspirin on stroke.

Arch Int Med 11: 159

Jurk K, Kehrel BE (2005):

Die zentrale Rolle der Thrombozyten im neuen Verständnis der Hämostase.

Hämostasiologie 25: 39-49

Juul-Möller S, Edvardsson N, Jahnmatz B et al. (1992):

Double- blind trial of aspirin in primary prevention of myocardial infarction in patients with stable chronic angina pectoris.

Lancet 340: 1421

Katzer MAA, Born GVR (1985):

Stimulation of primary haemostasis in vitro.

Haemostasis 15: 357-362

Klamroth R, Hoffmann S, Andresen D, Gottstein S, Landgraf H. (2006):

Insufficient platelet inhibition and coronary stent thrombosis – a causal relation?

Hämostasiologie 26: Poster 355 zur 50.Jahrestagung GTH

Koenig W, Löwel H, Lewis M, Hörmann A (1996):

Long- term survival after myocardial infarction:results of the Augsburg myocardial infarction follow- up study.

Eur Heart J 17: 1199-1206

- Krasopoulos G, Brister SJ, Beattie WS, Buchanan MR (2008):
Aspirin „resistance“ and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis.
BMJ 336: 195-198
- Kubisz P, Arabi A, Holan J, Cronberg S (1984):
Investigations on platelet function in diabetes mellitus.
Haemostasis 14: 347
- Lewis HD, Davis JW, Archibald DG, Steinke WE, Smitherman TC, Schnaper JW, LeWinter NM, Linares E et al. (1983):
Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. Results of a Veterans Administration Cooperative study.
N Engl J Med 309: 396
- Mahnel R, Scholz T, Wegert W, Westrup D, Pillitteri D, Kirchmaier CM (2006):
Korrelation unterschiedlicher Labormethoden zur Bestimmung der Aspirin-Wirkung.
Hämostasiologie 26: Poster 139 zur 50.Jahrestagung GTH
- Mahony C (1989):
Effect of aspirin on myocardial ischemia.
Am J Cardiol 64: 387
- Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, Greenberg C, Hoots WK, Kessler, CM, Larkin ED, Liles D, Nugent DJ (1998):
PFA-100 System: a new method for assessment of platelet dysfunction.
Seminars in Thrombosis and Hemostasis; 24 (2): 195-202
- Manson JE, Stampfer J, Colditz GA et al. (1991):
A prospective study of aspirin use and primary prevention of cardiovascular disease in women.
J Am Med Assoc 266: 521
- Mansouri A, Perry CA (1982):
Alteration of platelet aggregation by cigarette smoke and carbon monoxide.
Thromb Haemost. 48(3):286-288

- Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Frelinger AL, Furman MI (2002):
Flow Cytometry.
In: Platelets
(Herausgeber Michelson AD)
Academic Press Elsevier Science; Chapter 20: 297-315
- Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemerman C, Flower RJ, Vane JR (1994):
Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and
inducible cyclooxygenase.
Proc Natl Acad Sci 90 (24): 11693-11697
- Moncada S, Vane JR (1979):
Arachidonic acid metabolites and the interaction between platelets and blood
vessel walls.
N Engl J Med 300: 1142
- Mori TA, Vandongen R, Douglas AL, McCulloch RK, Burke V (1991):
Differential effect of aspirin on platelet aggregation in IDDM.
Diabetes 41: 261
- Motz W (1994):
Die optimale Dosierung von Acetylsalicylsäure in der Therapie der koronaren
Herzkrankheit.
Internist 35: 1165-1170
- Mulder BJM, Van der Doef RM, Van der Wall EE (1994):
Effect of various antithrombotic regimens on the functional status of patients and
grafts one year after coronary bypass grafting.
Eur Heart J 15: 1129-1134
- Muzii L, Marana R, Brunetti L, Margutti F (1998):
Postoperative adhesion prevention with low- dose aspirin: effect through selective
inhibition of thromboxane production.
Hum Reprod 13(6):1486-1489
- Nurden AT, Poujol J, Durrieu-Jais C, Nurden P (1999):
Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. Basic and clinical aspects.
Arterioscler Thromb Vasc Biol 19: 2835-2840

O'Connor CM, Meese RB, McNulty S (1996):

Randomized factorial trial of reperfusion strategies and aspirin dosing in acute myocardial infarction.

Am J Cardiol 77: 791-797

O'Brien JR (1968):

Effects of salicylates on human platelets.

Lancet I: 779

Patrono C, Collier B, Dalen JE, Fuster V, Gent M, Harker LA, Hirsh J, Roth G (1998):

Platelet-active drugs. The relationships among dose, effectiveness, and side effects.

Chest 114(Suppl): 470S-488S

Patrono C, Collier B, FitzGerald GA, Hirsh J, Roth G (2004):

Platelet-active drugs. The relationships among dose, effectiveness, and side effects.

Chest 126 (Suppl): 236S-264S

Patrono C, Rocca B (2008):

Aspirin: Promise and resistance in the new millennium

Arterioscler Thromb Vasc Biol 28: 25-32

Patrignani P, Filabozzi C, Patrono C (1982):

Selective, cumulative inhibition of platelet thromboxane production by low- dose aspirin in healthy subjects.

J Clin Invest 69: 1366-1372

Pedersen AK, FitzGerald GA (1984):

Dose-related kinetics of aspirin: presystemic acetylation of platelet cyclo-oxygenase.

N Engl J Med; 311: 1206-1211

Peters AJ, Borries M, Gradaus F, Jax TW, Schoebel FC, Strauer BE (2001):

In vitro bleeding test with PFA-100 – Aspects of controlling individual acetylsalicylic acid induced platelet inhibition in patients with cardiovascular disease.

J Thrombosis Thrombolysis 12(3): 263-272

Peters RJA, Mehta SR, Fox KAA, (2003):

Effects of aspirin dose when used alone or in combination with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes: Observations from the Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events (CURE) study.

Circulation; 108: 1682-1687

Petersen P, Boysen G, Godtfredsen J (1989):

The Copenhagen AFASAK study.

Lancet I: 175-179

Physicians' Health Study Research Group (1989):

Final report on the aspirin component of the Physicians' Health Study.

N Engl J Med 321:129-135.

Primary Prevention Project Collaborative Group (2001):

Low-dose aspirin and vitamin E in people at cardiovascular risk: a randomised trial in general practice.

Lancet 357: 89-95

Pulcinelli FM, Rinondino S, Celestini A (2005):

Persistent production of platelet thromboxane A₂ in patients chronically treated with aspirin.

J Thromb Haemost 3: 2784-2789

Ridker PM, Manson JE, Burning JE, Muller JE, Hennekens CH (1990):

Circadian variation of acute myocardial infarction and the effect of low dose aspirin in a randomized trial of physicians.

Circulation 82: 897

Ridker PM, Mnason JAE, Gaziano M, Buring JE, Hennekens CH (1991):

Low- dose aspirin therapie for chronic stable angina.

Ann Intern Med 114: 835-839

Ridker PM, Hennekens, CH, Tofler GH, Lipinska I, Burning JE (1996):

Anti-platelet effects of 100mg alternate day oral aspirin: randomized, double- blind, placebo- controlled trial of reluar and enteric coated formulations in men and women.

J Cardiovasc Risk 3: 209-212

Rodriguez LA, Hernandez-Diaz S, de Abajo FJ (2001):

Association between aspirin and upper gastrointestinal complications: systematic review of epidemiologic studies.

Br J Clin Pharmacol 52: 563-571

Roth GJ, Majerus PW (1975):

The mechanism of the effect of aspirin on human platelets. Acetylation of a particulate fraction protein.

J Clin Invest 56: 624-632

Ruggeri ZM (1994):

New insights into the mechanism of platelet adhesion and aggregation.

Sem Hematol 31: 229-239.

SALT Collaborative Group (1991) :

Swedish Aspirin low- dose Trial of 75mg aspirin as secondary prophylaxis after cerebrovascular ischaemic events.

Lancet 338: 1345-1349

Sane DC, McKee SA, Malinin AI, et al. (2002):

Frequency of aspirin resistance in patients with congestive heart failure treated with antecedent aspirin.

Am J Cardiol 90: 893-895

Savage B, Ruggeri ZM (2002):

Platelet Thrombus formation in flowing blood.

In: Platelets

Academic Press Elsevier Science; Chapter 13; 215-227

Schrör K (1992):

Acetylsalicylsäure.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Silagy CA, Mc Neil JJ, Bulpitt CJ (1991):

Rationale for a primary prevention study using low- dose aspirin to prevent coronary and cerebrovascular disease in the elderly.

J Am Geriatr Soc 39: 484-491

- Silagy CA, McMeil JJ, Donnan GA (1993):
Adverse effects of low- dose aspirin in a healthy elderly population.
Clin Pharmacol Ther 54: 84-89.
- Sinzinger H, Kritz H, Pirich Ch et al. (1995):
Thrombozytenfunktion gesunder Probanden unter einer Gabe von 50mg ASS pro Tag.
Wien Klin Wochenschr 107/15: 457-463
- Slattery J, Warlow CP, Shorrock CJ, Langman MJS (1995):
Risks of gastrointestinal bleeding during secondary pervention of vascular events with aspirin.
Gut 37: 509-511
- Smith JB, Willis AL (1971):
Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets.
Nature New Biol 231: 235
- Stepanauskas M, Norden C, Söllner P, Heine H (1981):
Bestimmung der Plättchenaggregation mit dem KZM-1-R
Z med Labor-Diagn 22: 148-154
- Syrbe, G (1986):
Untersuchungen von Blutgerinnungs- und Thrombozytenfunktionen bei Diabetes mellitus unter besonderer Berücksichtigung der Retinopathia diabetica.
Habilitationsschrift Universität Jena
- Taylor ML, Missio NLA, Stewart GA, Thompson PJ (1992):
Effect of varying doses of aspirin on human platelet activation induced by PAF, collagen and arachidonic acid.
Br J clin Pharmac 33: 25-31
- Theroux P, Ouimet H, MacCans J, Latour JGG, Joly P, Levy G, Waters D (1988) :
Aspirin, heparin or both to treat acute unstable angina.
New Engl J Med 319: 1105
- Till U (1999):
Pathophysiologie/Pathobiochemie systematisch
Verlag Uni-Med Bremen, S. 255

Tschöpe D (1992):

Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie der diabetischen Thrombozytopathie.
Habilitationsschrift, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Tschöpe D, Driesch E, Schwippert B, Nieuwenhuis HK, Gries FA (1995):

Exposure of adhesion molecules on activated platelets in patients with newly diagnosed IDDM is not normalized by near-normoglycemia.
Diabetes 44: 890-894

United Kingdom TIA aspirin trial (1991):

Final results of the UK- TIA study group.
J Neurol Neurosurg Psychiatry 54: 1044

Valles J, Santos MT, Aznar J, Osa A, Lago A, Cosin J, Sanchez E, Broekman MJ, Marcus AJ (1998):

Erythrocyte promotion of platelet reactivity decreases the effectiveness of aspirin as an antithrombotic therapeutic modality: the effect of low-dose aspirin is less than optimal in patients with vascular disease due to prothrombotic effects of erythrocytes on platelet reactivity.
Circulation 97: 350-355

Wallentin LC (1991):

Aspirin (75mg/day) after an episode of unstable coronary artery disease: Long-term effects on the risk for myocardial infarction, occurrence of severe angina and the need for revascularization.
J Am Coll Cardiol 18: 1587-1593

Watala C, Golanski J, Pluta J, Boncler M, Rozalski M, Luzak B, Kropiwnicka A, Drzewoski J (2004):

Reduced sensitivity of platelets from type 2 diabetic patients to acetylsalicylic acid – its relation to metabolic control.
Thromb Res 113: 101-113

Weber AA, Przytulski B, Schumacher M, Zimmermann N, Gams E, Hohlfeld T, Schrör K (2002):

Flow cytometry analysis of platelet cyclooxygenase-2 expression: induction of platelet cyclooxygenase-2 in patients undergoing coronary artery bypass grafting.
Br J Haematol 117 (2): 424-426

Weber AA, Przytulski B, Schanz A (2002):

Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach.

Platelets 13: 37-40

Weber AA, Zimmermann KC, Meyer-Kirchrath J, Schrör K (1999):

Cyclooxygenase 2 in platelets as a possible factor in aspirin resistance.

Lancet; 353: 900

Weksler BB, Pett SB, Alonso D, Richter RC, Stelzer P, Subramanian V (1983):

Differential inhibition by aspirin of vascular and platelet prostaglandin synthesis in atherosclerotic patients.

N Engl J Med 308: 800-805

Woulfe D, Yang J, Prevost N, O'Brien PJ, Brass LF (2002):

Signal transduction during the initiation, extension, and perpetuation of platelet plug formation.

In: Platelets

(Herausgeber Michelson AD)

Academic Press Elsevier Science; Chapter 12: 197-213

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn PD Dr. med. Günter Syrbe für die freundliche Überlassung des Themas und die ständige, unkomplizierte Hilfestellung bei praktischen und organisatorischen Fragen.

Bedanken möchte ich mich auch für die tatkräftige Unterstützung von Herrn PD Dr. med. Wolfgang Lösche sowie Dr. med. Helge Redlich. Ein herzliches Dankeschön auch an Herrn Müller für das Lösen so mancher EDV-Probleme.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Frau Silke für Ihr Verständnis, ihre Geduld und Ihre Unterstützung bedanken.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist, ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

PD Dr. med. Günter Syrbe, PD Dr. med. Wolfgang Lösche, Dr. med. Helge Redlich,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und daß Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

daß ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und daß ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.